Supplemento ordinario alla "Gazzetta Ufficiale" n. 142 del 26 maggio 1980

Spedizione in abbonamento postale - Gruppo I

DELLA REPUBBLICA ITALIANA

PARTE PRIMA — Roma - Lunedì, 26 maggio 1980 — SI PUBBLICA TUTTI I GIORNI MENO I FESTIVI

DIREZIONE E REDAZIONE PRESSO IL MINISTERO DI GRAZIA E GIUSTIZIA - UFFICIO PUBBLICAZIONE DELLE LEGGI E DECRETI - CENTRALINO 65101
AMMINISTRAZIONE PRESSO L'ISTITUTO POLIGRAFICO E ZECCA DELLO STATO - LIBRERIA DELLO STATO - PIAZZA G. VERDI, 10 - 00100 ROMA - CENTRALINO 8508

DECRETO MINISTERIALE 17 marzo 1980.

Aggiornamento alla VIII edizione della Farmacopea Ufficiale della Repubblica italiana.

LEGGI E DECRETI

DECRETO MINISTERIALE 17 marzo 1980.

Aggiornamento alla VIII edizione della Farmacopea Ufficiale della Repubblica italiana.

IL MINISTRO DELLA SANITA'

Visto l'art. 124 del testo unico delle Leggi Sanitarie approvate con regio decreto 27 luglio 1934, n. 1265, modificato dalla legge 7 novembre 1942, n. 1528;

Visto il regolamento per il servizio farmaceutico, approvato con regio decreto 30 settembre 1938, n. 1706;

Vista la legge 9 novembre 1961, n. 1242, relativa alla revisione e pubblicazione della Farmacopea Ufficiale;

Visto il decreto 12 febbraio 1972, con il quale è stato approvato il testo della VIII edizione della Farmacopea Ufficiale della Repubblica italiana;

Visto il decreto in data 21 gennaio 1978 con il quale è stato approvato il testo del I supplemento alla VIII edizione della Farmacopea Ufficiale della Repubblica italiana;

Vista la legge 22 ottobre 1973, n. 752 relativa alla ratifica ed esecuzione della Convenzione europea per la elaborazione di una Farmacopea Europea, adottata a Strasburgo il 22 luglio 1964;

Visto il supplemento al III volume della Farmacopea Europea;

Viste le successive risoluzioni del Comitato di sanità pubblica del Consiglio d'Europa (Accordo parziale), adottate a seguito delle decisioni prese dalla Commissione europea di Farmacopea in applicazione delle disposizioni dell'articolo 6 della Convenzione europea predetta;

Ritenuto necessario recepire tali decisioni nel testo della Farmacopea Ufficiale, nonché apportare alcune variazioni e correzioni ai testi del I volume, del II volume e del I supplemento (1978) della predetta edizione della Farmacopea Ufficiale;

Sentita la Commissione permanente per la revisione e la pubblicazione della Farmacopea Ufficiale, prevista dalla citata legge 9 novembre 1961, n. 1242;

Decreta:

Art. 1.

E' approvato il testo di cui agli allegati I, II e III al presente decreto; esso entra in vigore a partire dal novantesimo giorno successivo alla sua pubblicazione nella *Gazzetta Ufficiale.*

Art. 2.

Il presente decreto sarà pubblicato nella *Gazzetta Ufficiale* della Repubblica italiana.

Roma, addì 17 marzo 1980

Il Ministro: ALTISSIMO

ALLEGATI

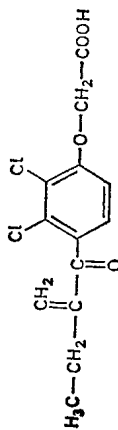
ALLEGATO I

MONOGRAFIE NUOVE E MONOGRAFIE E CAPITOLI, SOSTITUITI PER ADEGUAMENTO AI TESTI DELLA FARMACOPEA EUROPEA

È aggiunta la monografia seguente

ACIDO ETACRINICO
Acidum etacrynicum

Acidum etacryn cum Ⓔ

$H_3C-CH_2-C(=CH_2)-C(=O)-C_6H_2Cl_2-O-CH_2-COOH$

Acido 2,3-dicloro-4-(2-metilene-butanoil)-fenossiacetico

$C_{13}H_{12}Cl_2O_4$ PM = 303,1

Titolo. Deve contenere non meno del 97,0 per cento e non più dell'equivalente del 102,0 per cento di acido etacrinico ($C_{13}H_{12}Cl_2O_4$), calcolato sulla sostanza essiccata.

CARATTERI

Polvere cristallina bianca o quasi bianca, inodore o quasi

Solubilità. Molto poco solubile in *acqua*, molto solubile in *alcool*, in *cloroformio* e in *etere*. Con gli idrossidi, i carbonati alcalini e l'ammoniaca forma composti solubili in *acqua*

IDENTIFICAZIONE

A) Fonde a 123° circa

B) 5 mg circa si sciolgono in 1 ml di *acido solforico* Si sviluppa una colorazione gialla, tendente al verde.

C) 25 mg circa si sciolgono in 2 ml di *sodio idrossido N* e si riscalda a b m per 5 minuti. Si raffredda e si aggiungono 0,25 ml di *acido solforico* al 50 per cento v/v, 0,5 ml di *acido cromotropico sale sodico* al 10 per cento p/v e, con cautela, 2 ml di *acido solforico*. Si sviluppa una colorazione violetta intensa.

D) 50 mg si sciolgono in una miscela di 99 ml di *alcool metilico* ed 1 ml di *acido cloridrico N*. Si prelevano 10,0 ml di soluzione e si portano a 100,0 ml con la stessa miscela di solventi. La soluzione, esaminata a luce U.V. fra 230 e 350 nm, presenta un solo massimo di assorbimento vicino a 270 nm ed un flesso vicino a 285 nm.

SAGGI

Estinzione. Si determina sulla soluzione preparata come descritto alla reazione di identificazione *D*), in vaschetta da 1 cm, al massimo di assorbimento vicino a 270 nm. il valore E (1%, 1 cm) deve essere compreso tra 110 e 120.

Sostanze estranee. 1,0 g si sciolgono, agitando in un cilindro di vetro con tappo smerigliato, in 50 ml di soluzione di *sodio solfito* all'8 per cento p/v. Si lascia a riposo per 20 minuti e si aggiungono 5 ml di *acido cloridrico*. La soluzione si travasa in due tubi da centrifuga, aggiungendo a ciascun tubo 15 ml di *benzolo*. Si tappano i tubi e si agita energicamente per due minuti stappando una o due volte per permettere la fuoriuscita dell'anidride solforosa. Si centrifuga, si preleva la soluzione benzenica surnatante e si ripete l'estrazione due volte, utilizzando ogni volta 15 ml di *benzolo*. Si riuniscono le 6 soluzioni benzeniche, si evapora a secco su b.m. e il residuo si essicca a 60° per 2 ore ad una pressione non superiore a 5 Torr. Dopo raffreddamento si pesa. Il peso del residuo non deve essere superiore a 20 mg (2 per cento).

Metalli pesanti. Si riprende il residuo ottenuto nella determinazione delle ceneri solforiche con 2 ml di *acido cloridrico* e si evapora a secco su b m. Si inumidisce il residuo con 0,05 ml di *acido cloridrico*, si aggiungono 10 ml di *acqua* calda e si lascia a riposo per 2 minuti. Si neutralizza al *tornasole cartina rossa* con *ammoniaca diluita* (*I*), quindi si acidifica leggermente con *acido acetico diluito*. Si filtra se necessario. Il crogiuolo ed il filtro si lavano con *acqua*. Il filtrato e le acque di lavaggio si riuniscono e si porta a 20 ml con *acqua*. 12 ml della soluzione devono soddisfare al « Saggio limite per i metalli pesanti » (20 p p.m.), (I, pag 135). Come soluzione campione si impiega la *soluzione di piombo (Pb) a 1 p.p.m.*

Perdita all'essiccamento. Non superiore allo 0,5 per cento, determinata per essiccamento in stufa a 60°, ad una pressione massima di 5 Torr, su 2,00 g (I, pag 40, Suppl., pag 11).

Ceneri solforiche. Non superiori allo 0,1 per cento, determinate su 1,0 g

DETERMINAZIONE QUANTITATIVA

0,200 g circa, esattamente pesati, si sciolgono in 40 ml di *acido acetico glaciale*, in una beuta con tappo a smeriglio. Si aggiungono 20,0 ml di *bromo 0,1 N* e 3 ml di *acido cloridrico*. Si chiude immediatamente la beuta, si mescola e si lascia riposare per 1 ora al riparo dalla luce. Quindi si aggiungono 100 ml di *acqua* e 10 ml di *potassio ioduro soluzione*. Si mescola e si titola immediatamente con *sodio tiosolfato 0,1 N*, in presenza di *amido soluzione*, aggiunta verso la fine della titolazione. Si effettua una prova in bianco.

1 ml di *bromo 0,1 N* corrisponde a 15,16 mg di acido etacrinico ($C_{13}H_{12}Cl_2O_4$).

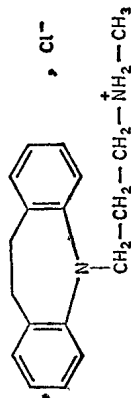
CONSERVAZIONE

In recipienti ben chiusi

È aggiunta la monografia seguente:

DESIPRAMINA CLORIDRATO
Desipraminum hydrochloridum

Desipramini hydrochloridum Ⓔ

$N-CH_2-CH_2-CH_2-\overset{+}{N}H_2-CH_3$, Cl^-

10,11-Diidro-5-[3-(metilamino)-propil]-5H-dibenz[b,f]azepina cloridrato

$C_{18}H_{23}ClN_2$ PM = 302,9

Titolo. Deve contenere non meno del 98,5 per cento di desipramina cloridrato ($C_{18}H_{23}ClN_2$), calcolato sulla sostanza essiccata.

CARATTERI.

Polvere cristallina bianca o quasi bianca, inodore o quasi inodore

Solubilità. Solubile in *acqua* e in *alcool*, molto solubile in *cloroformio*, praticamente insolubile in *etere.*

P.f. Fonde a 214° circa

IDENTIFICAZIONE

A) 5 mg circa si sciolgono in 2 ml di *acido nitrico* Si sviluppa una intensa colorazione blu.

B) 0,5 g si sciolgono in 20 ml di *alcool* e si riscalda fino ad ebollizione Si aggiungono 5 ml di una soluzione satura di *acido picrico* in *alcool* e si lascia raffreddare. Il precipitato formatosi, raccolto su di un filtro, lavato con *alcool* ed essiccato, fonde a 161° circa

C) La soluzione allo 0,002 per cento p/v in *acido cloridrico 0,01 N*, esaminata tra 230 e 350 nm, presenta un solo massimo di assorbimento vicino a 251 nm con E (1%, 1 cm) di circa 270 nm ed un flesso a 270 nm circa

D) 50 mg circa si sciolgono in 3 ml di *acqua* e si aggiungono 0,05 ml di una soluzione al 2,5 per cento p/v di *chinidrone* in *alcool metilico* Dopo circa 15 minuti si sviluppa lentamente una intensa colorazione rosa.

E) 50 mg circa si sciolgono in 5 ml di *acqua* e si aggiunge 1 ml di *ammoniaca diluita (1)* Si mescola, si lascia riposare per 5 minuti e si filtra Il filtrato si acidifica con *acido nitrico diluito* La soluzione dà le reazioni caratteristiche dei cloruri (I, pag 93).

SAGGI

Soluzione S. 2,0 g si sciolgono in *acqua* portando al volume di 25 ml

Aspetto della soluzione. La soluzione S non deve essere più intensamente colorata della soluzione di riferimento GB_6 (Procedimento I, I, pag 36).

pH. Tra 4,5 e 5,7, determinato sulla soluzione S

Sostanze organiche analoghe. Si opera per cromatografia su strato sottile utilizzando una lastra di *gel di silice G*

Soluzione del prodotto in esame (*a*). 0,25 g si sciolgono in una miscela di 1 v di *ammoniaca concentrata* e 9 v di *alcool metilico* e si porta a 10 ml con la stessa miscela di solvente. Si prepara immediatamente prima dell'uso.

Soluzione di confronto (*b*). 5 mg di *iminodibenzile* si sciolgono in *alcool metilico* e si porta a 100 ml con lo stesso solvente Si prepara immediatamente prima dell'uso.

Procedimento Sulla lastra si depongono separatamente 5 µl di ciascuna soluzione. Si effettua la cromatografia per un percorso di 15 cm con una miscela di 20 v di *toluene*, 20 v. di *etile acetato*, 4 v di *alcool* e 1 v. di *dietilammina.* Si lasciano evaporare i solventi per 10 minuti a temperatura ambiente e si spruzza la lastra con una soluzione di *potassio bicromato* allo 0,5 per cento p/v in una miscela di 4 v. di *acqua* e 1 v di *acido solforico.* Si esamina la lastra immediatamente: il cromatogramma ottenuto con la soluzione del prodotto in esame (*a*) presenta una macchia principale di colore blu. Qualsiasi altra macchia secondaria non deve essere più intensa di quella ottenuta con la soluzione di confronto (*b*).

Perdita all'essiccamento. Non superiore allo 0,5 per cento, determinata per essiccamento in stufa a 100°-105°, su 1,00 g (I, pag. 40 e Suppl, pag 11)

Ceneri solforiche. Non superiori allo 0,1 per cento, determinate su 1,0 g

DETERMINAZIONE QUANTITATIVA

0,300 g circa, esattamente pesati, si sciolgono in 50 ml di *cloroformio* Si aggiungono 10 ml di *mercurio (-ico) acetato soluzione* e si effettua il dosaggio in ambiente non acquoso delle basi organiche (I, pag. 99), titolando con *acido perclorico 0,1 N* in presenza di *giallo metanile soluzione* come indicatore.

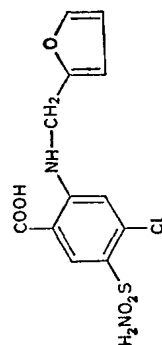
1 ml di *acido perclorico 0,1 N* corrisponde a 30,29 mg di desipramina cloridrato ($C_{18}H_{23}ClN_2$).

CONSERVAZIONE

In recipienti ben chiusi al riparo dalla luce.

È aggiunta la monografia seguente

FUROSEMIDE
Furosemidum

Furosemidum Ⓔ

Acido 4-cloro-2-(2-furilmetil)-amino-5-sulfamoil-benzoico

$C_{12}H_{11}ClN_2O_5S$ P M = 330,7

Titolo. Deve contenere non meno del 98,5 per cento e non più dell'equivalente del 101,0 per cento di furosemide ($C_{12}H_{11}ClN_2O_5S$) calcolato sulla sostanza essiccata

CARATTERI

Polvere cristallina bianca o quasi bianca, inodore

Solubilità. Praticamente insolubile in *acqua* e in *cloroformio*, solubile in *acetone*, moderatamente solubile in *alcool* e poco solubile in *etere* Si scioglie in alcali diluiti.

IDENTIFICAZIONE

A) Fonde a 206° circa (con dec)

B) 25 mg circa si sciolgono in 10 ml di *alcool*; a 5 ml di tale soluzione si aggiungono 10 ml di *acqua*. La soluzione deve essere acida (I, pag. 66)

C) 0,2 ml della soluzione diluita, ottenuta come detto sopra, si scaldano a ricadere, per 15 minuti, con 10 ml di *acido cloridrico diluito* Si lascia raffreddare e si aggiungono 18 ml di *sodio idrossido N* e 1 ml di soluzione di *sodio nitrito* allo 0,5 per cento p/v. Dopo 3 minuti si aggiungono 2 ml di soluzione di *acido solfammico* al 2,5 per cento p/v e si mescola. Aggiungendo 1 ml di soluzione di *N-(1-naftil)etilendiammina bicloridrato* allo 0,5 per cento p/v si sviluppa una colorazione rosso-violetta.

D) La soluzione allo 0,0005 per cento p/v in *sodio idrossido 0,1 N*, esaminata a luce U.V. tra 220 e 400 nm, presenta tre massimi di assorbimento vicini a 228 nm, 271 nm e 333 nm.

SAGGI

Cloruri 0,5 g si agitano per 5 minuti con una miscela di 30 ml di *acqua* e 0,2 ml di *acido nitrico*; si lascia a riposo per 15 minuti e si filtra. 15 ml del filtrato devono soddisfare al «Saggio limite per i cloruri» (200 p.p.m), (I, pag 132).

Solfati. 1,0 g si agitano per 5 minuti con una miscela di 30 ml di *acqua* e 0,2 ml di *acido acetico*, si lascia a riposo per 15 minuti e si filtra. 15 ml del filtrato devono soddisfare al «Saggio limite per i solfati» (300 p p.m.), (I, pag 138)

Amine primarie aromatiche libere 0 1 g si sciolgono in 25 ml di *alcool metilico* A 1 ml della soluzione si aggiungono 3 ml di *dimetilformamide*, 12 ml di *acqua* e 1 ml di *acido cloridrico* N. Si raffredda, si aggiunge 1 ml di soluzione di *sodio nitrito* allo 0,5 per cento p/v, si agita e si lascia riposare per 5 minuti Si aggiunge 1 ml di soluzione di *acido solfammico* al 2,5 per cento p/v, si agita e si lascia a riposo per 3 minuti Si aggiunge 1 ml di soluzione di *N-(1-naftil) etilendiammina bicloridrato* allo 0,5 per cento p/v e si porta a 25 ml con *acqua* Si misura l'estinzione a 530 nm, in vaschetta da 1 cm utilizzando, come bianco, una soluzione preparata nello stesso modo a partire da una miscela di 1 ml di *alcool metilico* e 3 ml di *dimetilformamide*. L'estinzione non deve essere superiore a 0,12.

Perdita all'essiccamento. Non superiore allo 0,5 per cento, determinata per essiccamento in stufa a 100°-105° su 1,00 g (I, pag. 40 e Suppl, pag. 11)

Ceneri solforiche. Non superiori allo 0,1 per cento, determinate su 1,0 g

DETERMINAZIONE QUANTITATIVA

0,250 g circa, esattamente pesati, si sciolgono in 20 ml di *dimetilformamide* Si aggiungono 0,2 ml di *azzurro bromotimolo soluzione (2)*, titolando con *sodio idrossido 0,1 N* fino a colorazione blu. Si effettua una prova in bianco.

1 ml di *sodio idrossido 0,1 N* corrisponde a 33,07 mg di furosemide ($C_{12}H_{11}ClN_2O_5S$).

CONSERVAZIONE

Al riparo dalla luce

È aggiunta la monografia seguente

LITIO CARBONATO
Litium carbonicum

Lithii carbonas Ⓔ

Li_2CO_3 P M = 73,9

Titolo Deve contenere non meno del 98,5 per cento di litio carbonato (Li_2CO_3)

CARATTERI

Polvere leggera, bianca

Solubilità. Moderatamente solubile in *acqua*, molto poco solubile in *alcool*

IDENTIFICAZIONE

A) Umettato con *acido cloridrico* impartisce una colorazione rossa al mantello esterno della fiamma ossidante.

B) Dà le reazioni caratteristiche dei carbonati (I, pag 92).

C) 0,2 g si sciolgono in 1 ml di *acido cloridrico*, evaporando poi a secco su b m il residuo si scioglie in 3 ml di *alcool*.

SAGGI

Soluzione S. 10,0 g si sospendono in 30 ml di *acqua* e si sciolgono aggiungendo 22 ml di *acido nitrico*. La soluzione si neutralizza con *sodio idrossido soluzione diluita*, portando al volume di 100,0 ml con *acqua*.

Aspetto della soluzione. La soluzione S deve essere limpida (procedimento B, I, pag. 35) e incolore (procedimento 2, I, pag 37).

Cloruri. 2,5 ml di soluzione S si diluiscono a 15 ml con *acqua* La soluzione deve soddisfare al « Saggio limite per i cloruri » (200 p.p.m.), (I, pag. 132)

Solfati. 7,5 ml di soluzione S si diluiscono a 15 ml con *acqua* La soluzione deve soddisfare al « Saggio limite per i solfati » (200 p.p m), (I, pag. 138).

Arsenico. 0,50 g devono soddisfare al « Saggio limite per l'arsenico - Metodo A » (2 p.p m.), (I, pag. 130 e Suppl., pag. 32).

Calcio. 5 ml di soluzione S si diluiscono a 10 ml con *acqua* La soluzione deve soddisfare al « Saggio limite per il calcio » (200 p.p m.), (I, pag. 132 e Suppl., pag. 33)

Ferro. 5 ml di soluzione S si diluiscono a 10 ml con *acqua* La soluzione deve soddisfare al « Saggio limite per il ferro - Metodo B » (20 p p.m.), (I, pag 133 e Suppl., pag. 34).

Metalli pesanti. 12 ml di soluzione S devono soddisfare al « Saggio limite per i metalli pesanti » (20 p.p m), (I, pag. 135). Come soluzione campione si impiega la *soluzione di piombo (Pb) a 2 p p.m.*

Magnesio (150 p.p.m). 1 ml di soluzione S si diluisce a 10 ml con *acqua*; a 6,7 ml di questa soluzione, precedentemente diluita a 9 ml con *acqua*, si aggiungono 1 ml di *glicerina*, 0,15 ml di *giallo titanio soluzione*, 0,25 ml di *ammonio ossalato soluzione* e 5 ml di *sodio idrossido soluzione diluita* e si mescola. Se si sviluppa una colorazione rosa essa non deve essere più intensa di quella ottenuta con una soluzione di confronto preparata nelle stesse condizioni con una miscela di 1 ml di *magnesio (Mg) soluzione a 10 p.p.m.* e 8 ml di *acqua*.

Potassio. (Non superiore a 300 p p m) 1,0 g si sciolgono in 10 ml di *acido cloridrico (1)* portando a 50,0 ml con *acqua*. Si determina il potassio per fotometria di fiamma - Procedimento I (I, pag. 72) a 766,5 nm La soluzione di confronto si prepara sciogliendo 0,953 g di *potassio cloruro* in *acqua*, portando a 1000 ml, (500 µg di K per ml) e diluendo se necessario.

Sodio. (Non superiore a 300 p p m). 1,0 g si sciolgono in 10 ml di *acido cloridrico (1)*, portando a 50,0 ml con *acqua*. Si determina il sodio per fotometria di fiamma - Procedimento I (I, pag. 73) a 589,0 nm La soluzione di confronto si prepara sciogliendo 1,271 g di *sodio cloruro* in *acqua*, portando a 1000 ml, (500 µg di Na per ml) e diluendo se necessario

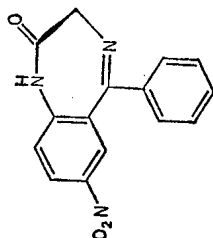
DETERMINAZIONE QUANTITATIVA

1,000 g circa, esattamente pesati, si sciolgono in 50,0 ml di *acido cloridrico N* e si porta all'ebollizione. Si lascia raffreddare e si titola l'eccesso di acido cloridrico con *sodio idrossido N* in presenza di *fenolftaleina soluzione*.

1 ml di *acido cloridrico N* corrisponde a 36,95 mg di litio carbonato (Li_2CO_3)

È aggiunta la monografia seguente

NITRAZEPAM
Nitrazepamum

Nitrazepamum Ⓔ

1,3-Diidro-5-fenil-7-nitro-2H-1,4-benzodiazepin-2-one

$C_{15}H_{11}N_3O_3$ PM = 281,3

Titolo. Deve contenere non meno del 99,0 per cento e non più dell'equivalente del 101,0 per cento di nitrazepam ($C_{15}H_{11}N_3O_3$), calcolato sulla sostanza essiccata.

CARATTERI

Polvere cristallina gialla, inodore o quasi

Solubilità. Praticamente insolubile in *acqua*, moderatamente solubile in *cloroformio*, poco solubile in *alcool* e in *etere*

IDENTIFICAZIONE

A) Fonde a 226° e 230°

B) 20 mg circa si sciolgono in una miscela di 5 ml di *acido cloridrico* e 10 ml di *acqua*. Si fa bollire per 5 minuti, si raffredda e si aggiungono 2 ml di una soluzione di *sodio nitrito* allo 0,1 per cento p/v Dopo un minuto si aggiunge 1 ml di una soluzione di *acido solfammico* allo 0,5 per cento p/v, si mescola e dopo un altro minuto si aggiunge 1 ml di una soluzione di *N-(1-naftil)etilendiamina bicloridrato* allo 0,1 per cento p/v. Si sviluppa una colorazione rossa.

C) 10 mg circa si sciolgono in 1 ml di *alcool metilico* riscaldando se necessario e si aggiungono 0,05 ml di *sodio idrossido soluzione diluita* Si sviluppa una colorazione gialla intensa.

D) *Le soluzioni si devono tenere al riparo dalla luce e le estinzioni vanno misurate immediatamente.* 25 mg si sciolgono in una soluzione allo 0,5 per cento p/v di *acido solforico* in *alcool metilico*, portando al volume di 250 ml. Si prelevano 5 ml e si portano a 100 ml con la stessa soluzione metanolica. La soluzione ottenuta, esaminata a luce U.V. fra 230 e 350 nm, in vaschetta da 1 cm, presenta un solo massimo di assorbimento a 280 nm circa con E (1%, 1 cm) di circa 900.

SAGGI.

Sostanze organiche analoghe e prodotti di decomposizione. *Le soluzioni si devono tenere al riparo dalla luce durante il saggio.* Si esegue una cromatografia su strato sottile, utilizzando una lastra ricoperta di *gel di silice* GF_{254}.

Soluzione del prodotto in esame (*a*). 0,25 g si sciolgono in una miscela di 1 v. di *alcool metilico* e 1 v. di *cloroformio*, portando al volume di 10 ml. La soluzione deve essere preparata estemporaneamente.

Soluzione di confronto (*b*). 1 ml della soluzione in esame (*a*) si diluisce a 20 ml con una miscela di 1 v. di *alcool metilico* e 1 v. di *cloroformio*. 1 ml di questa soluzione si diluisce ulteriormente a 50 ml con la stessa miscela di solventi.

Procedimento. Sulla lastra si depongono separatamente 10 μl di ciascuna soluzione (*a*) e (*b*) e si effettua la cromatografia per un percorso di 12 cm, con una miscela di 85 v. di *nitrometano* e 15 v. di *etile acetato*. La lastra si asciuga all'aria e si esamina a luce U.V. di 254 nm. Se sul cromatogramma ottenuto con la soluzione in esame (*a*) compare una macchia secondaria, questa non deve essere più intensa della macchia ottenuta con la soluzione di confronto (*b*).

Metalli pesanti. Al residuo ottenuto nella determinazione delle *ceneri solforiche* si aggiungono 2 ml di *acido cloridrico* e si lascia evaporare lentamente a secchezza su b.m. Il residuo si inumidisce con 0,05 ml di *acido cloridrico*, si aggiungono 10 ml di *acqua* bollente e si riscalda per 10 minuti su b.m. Se necessario si filtra e si lava il filtrato con *acqua*; si riuniscono il filtrato e le acque di lavaggio, portando a 20 ml con *acqua*. 12 ml della soluzione devono soddisfare al « Saggio limite per i metalli pesanti » (20 p.p.m.), (I, pag. 135). Come soluzione campione si impiega la *soluzione di piombo* (*Pb*) *a 1 p.p.m.*.

Perdita all'essiccamento. Non superiore allo 0,5 per cento, determinata per essiccamento in stufa a 100°-105° per 4 ore su 1,00 g (I, pag. 40 e Suppl., pag. 11).

Ceneri solforiche. Non superiori allo 0,1 per cento, determinate su 1,0 g.

DETERMINAZIONE QUANTITATIVA.

0,500 g circa, esattamente pesati, si sciolgono in 50 ml di *anidride acetica* e si aggiungono 0,25 ml di *Nilo blu A soluzione*. Si esegue il dosaggio in ambiente non acquoso delle basi organiche (I, pag. 99), titolando con *acido perclorico 0,1 N*, fino al viraggio al verde-giallo.

1 ml di *acido perclorico 0,1 N*, corrisponde a 28,13 mg di nitrazepam ($C_{15}H_{11}N_3O_3$).

CONSERVAZIONE.

In recipienti ben chiusi, al riparo dalla luce.

All'elenco dei reattivi riportati nel I Volume e nel Supplemento sono aggiunte le seguenti voci:

Nilo Blu A. (C.I. 51180. Schultz n. 1029). $C_{20}H_{21}N_3O_5S$ (P.M. 415,5). Polvere cristallina, verde, con riflessi bronzei, moderatamente solubile in *alcool*, in *acido acetico glaciale* ed in *piridina*. La soluzione allo 0,0005 per cento p/v in *alcool* al 50 per cento v/v presenta un massimo di assorbimento a 640 nm.

Nilo Blu A soluzione. Soluzione all'1 per cento p/v in *acido acetico anidro*.

Prova di sensibilità. A 50 ml di *acido acetico anidro* si aggiungono 0,25 ml di *Nilo Blu A soluzione*. La soluzione è di colore blu. Aggiungendo 0,1 ml di *acido perclorico 0,1 N*, il colore vira al blu-verde.

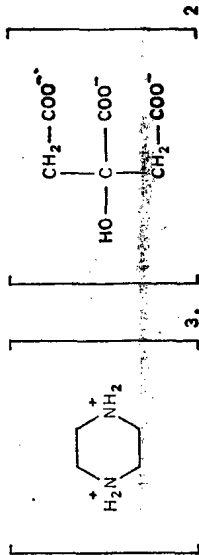
Zona di viraggio: da pH 9,0 (blu) a pH 13,0 (rosso).

Nitrometano. CH_3NO_2 (P.M. 61,0). Liquido oleoso, limpido, incolore, poco solubile in *acqua*, miscibile con *alcool* e *etere*. Densità relativa: 1,132-1,134. Indice di rifrazione: 1,381-1,383. Intervallo di ebollizione: almeno il 95 per cento distilla tra 100°-103°.

È aggiunta la monografia seguente:

PIPERAZINA CITRATO
Piperazinum citricum

Piperazini citras Ⓔ

$$\left[H_2\overset{+}{N}\langle\rangle\overset{+}{N}H_2 \right]_3 , \left[HO-C(CH_2-COO^-)(COO^-)(CH_2-COO^-) \right]_2$$

$C_{24}H_{46}N_6O_{14}$ P.M. = 643

Titolo. Deve contenere non meno del 98,0 per cento di piperazina citrato ($C_{24}H_{46}N_6O_{14}$), calcolato sulla sostanza anidra.

Contiene una quantità variabile di acqua di cristallizzazione.

CARATTERI.

Polvere granulare bianca, inodore o quasi.

Solubilità. Molto solubile in *acqua*, praticamente insolubile in *alcool* e in *etere*.

P.f. Dopo essiccamento a 100°-105°, fonde a 190° circa.

IDENTIFICAZIONE.

A) Come alla monografia « Piperazina adipato » (pag. 00).

B) 0,2 g. si sciolgono in 5 ml di *acido cloridrico diluito* e si aggiungono 0,5 g di *sodio nitrito*. Si porta all'ebollizione e si raffredda nel ghiaccio per 15 minuti, sfregando le pareti interne del contenitore con una bacchetta di **vetro**. Si **filtra**; i cristalli, dopo lavaggio con 10 ml di *acqua* ghiacciata ed essiccamento a 100°-105°, fondono a circa 159°.

C) La soluzione al 10 per cento p/v dà le reazioni caratteristiche dei citrati (I, pag. 93).

SAGGI

Soluzione S. 1,0 g si sciolgono in *acqua* e si portano a 20 ml con lo stesso solvente.

pH. Tra 5,0 e 6,0, determinato sulla soluzione S, preparata di recente

Amine primarie. Come alla monografia « Piperazina adipato » (pag 00)

Metalli pesanti. 12 ml della soluzione S devono soddisfare al « Saggio limite per i metalli pesanti » (20 p.p.m.) (I, pag 135). Come soluzione campione si impiega la *soluzione di piombo (Pb) a* [illegible] *p.p.m*

Acqua. Tra il 10,0 e il 14,0 per cento, determinata con il semimicrometodo su 0,300 g.

Ceneri solforiche. Non superiori allo 0,[illegible] per cento, determinate su 1,0 g.

DETERMINAZIONE QUANTITATIVA

Come alla monografia « Piperazina adipato » (pag. 00)

1,000 g del residuo corrispondono a 0, 3935 g di piperazina citrato ($C_{24}H_{46}N_6O_{14}$).

CONSERVAZIONE.

In recipienti ben chiusi.

È aggiunta la monografia seguente

TOSSINA DIFTERICA DIAGNOSTICA
Toxinum diphtericum diagnosticum

Toxinum diphtericum diagnosticum ®; tossina per prova di Schick.

La tossina difterica diagnostica è la preparazione utilizzata per rivelare, mediante la prova di Schick, l'assenza di immunità contro la difterite.

Si prepara a partire dal filtrato sterile di una coltura in terreno liquido di un ceppo tossigeno(1) di *Corynebacterium diphteriae*. La tossina può essere purificata. Viene diluita in modo che la dose di prova sia contenuta in 0,1 o 0,2 ml. Per assicurare la stabilità della preparazione il diluente è costituito da una soluzione sterile(2) isotonica con il sangue, contenente un adatto battericida La preparazione è distribuita in recipienti sterili che vengono poi chiusi ermeticamente in modo da evitare ogni contaminazione microbica. Si presenta sotto forma di un liquido limpido, incolore o di colore giallo paglierino molto debole

(1) Una subcoltura ben caratterizzata del ceppo PW 8 è soddisfacente

(2) Soluzione acquosa sterile contenente l'1,5 per cento p/v di una miscela di 57 g di *borace*, 85 g di *acido borico* e 99 g di *sodio cloruro* o qualsiasi altra soluzione tampone a pH compreso tra 7,2 e 7,4, isotonica con il sangue.

IDENTIFICAZIONE

Si utilizza una cavia o un coniglio sani, di colore bianco, non trattati in precedenza con sostanze che possano interferire nel saggio.

La preparazione, inoculata per via intradermica nell'animale, provoca una reazione locale; mescolata con una quantità sufficiente di antitossina difterica, non provoca più questa reazione

SAGGI.

Sterilità. Deve soddisfare al « Controllo di sterilità » (pag 00)

ATTIVITA'

La dose umana singola della preparazione, contenuta in 0,1 ml o in 0,2 ml, corrisponde a una dose di tossina difterica di prova

L'attività della dose di prova è definita dalla sua capacità di combinazione con l'antitossina difterica e dalla sua attività eritrogenica, misurata in U I. di tossina per prova di Schick.

Capacità di combinazione. Si preparano due miscele di tossina per prova di Schick tali che la prima contenga una dose di prova e 1/750 di U.I. di antitossina difterica e la seconda una dose di prova e 1/1250 di U.I. di antitossina difterica. Si lasciano in incubazione le due miscele a t.a. per 30-60 minuti, quindi si inoculano per via intradermica, ciascuna su un fianco diverso, nella pelle rasata di una cavia bianca, del peso di almeno 500 g, o di un coniglio bianco, del peso di almeno 2,5 kg, non trattati in precedenza con sostanze che possano interferire nel saggio. Si esamina l'animale 48 ore dopo l'inoculazione. Non si deve manifestare alcuna reazione nel fianco su cui è stata inoculata la miscela contenente 1/750 di U.I. di antitossina difterica. Viceversa, nel fianco su cui è stata inoculata la miscela contenente 1/1250 di U.I. di antitossina difterica, si deve manifestare una reazione del tipo Schick positivo.

Attività eritrogenica. Si determina confrontando nelle cavie o nei conigli gli effetti delle inoculazioni intradermiche di diluizioni in serie di una dose di prova con quelli di diluizioni corrispondenti di una preparazione di riferimento, calibrata in U.I. (1).

Due cavie o due conigli, bianchi, sani e non trattati in precedenza con sostanze che possano interferire nel saggio, vengono rasati in modo che ogni animale presenti una superficie di pelle rasata sufficiente per 16 distinte inoculazioni, divise in due gruppi, di 4 ciascuno, su ogni fianco. Si preparano 2 diluizioni della preparazione da esaminare e 2 diluizioni della preparazione di riferimento, tali che, in entrambi i

(1) L'equivalenza tra l'U I e la preparazione campione internazionale è indicata periodicamente dall'O.M.S.

casi, la concentrazione di tossina delle diluizioni sia 1/5 della concentrazione di tossina dell'altra e che le soluzioni inoculate per via intradermica nelle cavie o nei conigli, alla dose di 0,2 ml, provochino eritemi di adeguata grandezza A tal fine si preparano soluzioni di tossina in esame diluendo 1 v. della preparazione rispettivamente con 2 v. e con 14 v. di diluente e soluzioni della preparazione di riferimento contenenti 1/3 e 1/15 di U.I. in 0,2 ml. Si inoculano per via intradermica, a ciascun animale, in successione 0,2 ml di ciascuna delle quattro soluzioni in 4 punti: le 4 iniezioni di ogni soluzione, nei 16 punti differenti previsti per ciascun animale, devono formare un *quadrato latino.*

Dopo 2 giorni si misura l'asse longitudinale e trasversale di ogni lesione. Basandosi sulla media geometrica delle misure suddette, si calcola mediante l'analisi di regressione l'attività eritrogenica di una dose di prova in rapporto all'U.I. di tossina difterica per prova di Schick. L'attività misurata non deve essere inferiore a 0,5 né superiore a 2,0 U.I

Stabilità. La tossina difterica diagnostica, preparata come sopra descritto, deve mantenere la sua attività per 2 mesi ad una temperatura di 25°.

CONSERVAZIONE E SCADENZA

In frigorifero, ad una temperatura compresa tra 2° e 8°

Conservata nelle condizioni prescritte, la preparazione può essere utilizzata per 2 anni, a partire dall'inizio del saggio di attività, se la confezione contiene almeno 1,5 ml, oppure per 6 mesi se contiene non più di 0,25 ml (dose unitaria).

ETICHETTE

L'etichetta deve essere conforme alle prescrizioni generali internazionali e nazionali in materia

Le etichette del recipiente e dell'imballaggio devono indicare

- il nome della preparazione;
- il volume totale contenuto nel recipiente;
- il volume della dose di prova;
- il numero del lotto;
- il nome del produttore

L'etichetta del recipiente o quella dell'imballaggio devono anche indicare

- la data di scadenza;
- le condizioni di conservazione

Liquido di controllo per la prova di Schick. È costituito dalla tossina difterica diagnostica per prova di Schick riscaldata per almeno 5 minuti, ad una temperatura compresa tra 70° e 85°. Può essere usato contemporaneamente alla tossina difterica diagnostica per prova di Schick per evitare reazioni dovute a sostanze aspecifiche. Deve essere preparato a partire dallo stesso lotto usato per la tossina difterica diagnostica con la quale verrà utilizzato.

Sterilità. Deve soddisfare al «Controllo di sterilita» (pag 00)

È aggiunta la monografia seguente

SIERIMMUNI PER USO VETERINARIO

Immunosera ad usum veterinarium

Immunosera ad usum veterinarium Ⓔ

Le indicazioni che figurano in questa monografia generale si applicano alle monografie sui sierimmuni per uso veterinario della Farmacopea Europea e non riguardano necessariamente le preparazioni analoghe che non sono oggetto di una monografia specifica.

I sierimmuni per uso veterinario sono preparazioni contenenti le immunoglobuline provviste del potere specifico di neutralizzare le tossine formatesi o di legarsi agli antigeni utilizzati per la loro preparazione. I sierimmuni, nativi o purificati, si ottengono a partire dal siero di animali sani, immunizzati mediante inoculazione di tossine o di anatossine, di veleni di serpenti, di virus, di sospensioni di microrganismi o di altri antigeni appropriati. Se durante l'immunizzazione, l'animale viene trattato con penicillina, esso non deve essere sottoposto a salassi nel corso degli otto giorni successivi all'ultima somministrazione di antibiotico.

Possono essere aggiunti adatti agenti conservanti; l'aggiunta è obbligatoria se le preparazioni sono distribuite in contenitori multidose.

I sierimmuni si presentano come liquidi il cui colore varia a seconda del metodo usato per la loro preparazione. Essi vengono distribuiti asetticamente in contenitori sterili che, successivamente, vengono ermeticamente chiusi. Quando sono liofilizzati si presentano sotto forma di massa friabile o di polvere solubile in acqua

Per quanto riguarda i sierimmuni purificati, le globuline contenenti le sostanze immunizzanti specifiche possono essere ottenute dal sierimmune nativo mediante trattamento enzimatico e precipitazione frazionata, o mediante altri metodi chimici o fisici. I sierimmuni purificati hanno stabilità massima a pH vicino a 6

SAGGI

I saggi seguenti si applicano ai sierimmuni liquidi, ricostituiti se necessario

pH. Tra 7,0 e 8,0 per i sierimmuni nativi; tra 6,0 e 7,0 per quelli purificati

Proteine totali. Non superiori al 17 per cento p/v Si determina l'azoto dopo mineralizzazione con acido solforico (I, pag 141) e si moltiplica il risultato ottenuto per 6,25.

Proteine estranee. I sierimmuni, sottoposti a reazioni di precipitazione con gli antisieri specifici, debbono essere costituiti esclusivamente da proteine della specie animale che ha fornito il sierimmune.

Fenoli. Se nella preparazione viene utilizzato fenolo, la sua concentrazione non deve essere superiore allo 0,5 per cento p/v (I, pag 140, Suppl , pag. 36).

Sterilità. Devono soddisfare al «Controllo di sterilità» (pag 00) con le modifiche e precisazioni seguenti:

Nel caso in cui il volume del liquido contenuto nel recipiente è superiore a 100 ml, si raccomanda di utilizzare, se possibile, la tecnica di filtrazione su membrana. Se questa tecnica è utilizzata, il periodo di incubazione del terreno non deve essere inferiore a 14 giorni; quando invece essa non può essere applicata, può essere utilizzato il metodo della semina diretta Quando il volume del liquido in ogni recipiente

è superiore o uguale a 20 ml, la quantità minima da utilizzare in ogni terreno di coltura deve corrispondere al 10 per cento del contenuto, ma non deve essere superiore a 5 ml. Il numero appropriato di unità da esaminare è l'1 per cento delle unità totali di un lotto, con un minimo di 4 ed un massimo di 10.

Tossicità anormale. Devono soddisfare al « Saggio per la verifica dell'assenza di tossicità anormale nei sieri e vaccini per uso veterinario » (Suppl., pag 59)

I sierimmuni purificati devono soddisfare anche al saggio seguente

Albumina. Salvo diversa indicazione nelle singole monografie, nei sierimmuni purificati, esaminati mediante elettroforesi, l'eventuale albumina riscontrata deve essere solo in tracce

ATTIVITA'

Effettuare il dosaggio biologico come indicato nelle singole monografie ed esprimere i risultati in U I. per ml, quando queste esistano

CONSERVAZIONE

Al riparo dalla luce e a una temperatura compresa tra 2° e 8° I sierimmuni liquidi non devono venire congelati

SCADENZA

Il periodo di validità dei sierimmuni liquidi nativi, salvo diversa indicazione nelle singole monografie, è generalmente di non più di 2 anni, quello dei sierimmuni liquidi purificati è di non più di 3 anni e quello dei sierimmuni liofilizzati è di non più di 5 anni; esso è calcolato a partire dal giorno di inizio del saggio di attività.

ETICHETTE

L'etichetta dei sierimmuni per uso veterinario è conforme alle prescrizioni generali internazionali e nazionali esistenti in materia.

L'etichetta del recipiente e quella dell'imballaggio devono indicare almeno

- il nome della preparazione;
- la dizione « per uso veterinario »;
- il numero di U.I. per ml, quando tali unità esistano;
- il numero della partita o qualsiasi altro contrassegno;
- le condizioni di conservazione;
- la data di scadenza;
- la specie animale alla quale il sierimmune è destinato.

L'etichetta sull'imballaggio o il foglio illustrativo devono inoltre indicare

- il nome della specie animale da cui proviene il sierimmune;
- la natura e la quantità di qualsiasi agente conservante aggiunto;
- la segnalazione di qualsiasi sostanza suscettibile di provocare reazioni secondarie;
- le controindicazioni all'uso del prodotto;
- per i sierimmuni liofilizzati la composizione e la quantità del diluente da aggiungere e la dizione « da utilizzare immediatamente dopo la ricostituzione »;
- le dosi consigliate per le differenti specie animali;
- il nome e l'indirizzo del produttore.

La monografia ACIDO UNDECILENICO (II, pag 40) è sostituita dalla seguente:

ACIDO UNDECILENICO
Acidum undecilenicum

Acidum undecilenicum Ⓔ

$$H_2C{=}CH{-}(CH_2)_8{-}\overset{\overset{\displaystyle O}{\|}}{C}{-}OH$$

Acido 10-undecenoico

$C_{11}H_{20}O_2$ P.M. = 184,3

Titolo. Deve contenere non meno del 95,0 per cento e non più dell'equivalente del 102,0 per cento di acido undecilenico ($C_{11}H_{20}O_2$)

CARATTERI

Massa cristallina bianca o di colore giallo molto pallido o liquido incolore o giallo pallido, di odore caratteristico.

Solubilità. Praticamente insolubile in *acqua*, molto solubile in *alcool*, in *etere*, in *cloroformio*, negli oli grassi e negli oli essenziali.

IDENTIFICAZIONE

A) 0,1 g si sciolgono in una miscela di 2 ml di *acido solforico diluito* e 5 ml di *acido acetico glaciale*; si aggiungono, goccia a goccia, 0,25 ml di *potassio permanganato soluzione*: il permanganato si decolora.

B) 2,0 g si fanno bollire per 1 ora in un pallone munito di refrigerante a ricadere con 3 ml di *anilina* distillata di recente. Si versa in imbuto separatore e, dopo raffreddamento, si aggiungono 15 ml di *alcool* e 15 ml di *etere*. Si agita 3 volte con 20 ml di *acido cloridrico diluito* e 1 volta con 20 ml di *acqua*. Si evapora la fase organica a secco su b.m. Il residuo, cristallizzato due volte da *alcool* al 70 per cento v/v ed essiccato sotto vuoto per 3 ore, fonde tra 66° e 68°.

C) *Punto di solidificazione*: tra 21° e 24°.

D) *Indice di rifrazione*: tra 1,447 e 1,450, determinato a 25°.

SAGGI

Acidi idrosolubili. 5,0 g si agitano con 5 ml di *acqua* La fase acquosa si filtra per filtro umido e al filtrato si aggiungono 0,1 ml di *metilarancio soluzione*. Per il viraggio dell'indicatore al giallo-arancio non si devono impiegare più di 0,1 ml di *sodio idrossido 0,1 N*

Oli minerali e fissi. 1,0 g si fanno bollire, per 3 minuti, con 25 ml di *acqua* e 5 ml di *sodio carbonato soluzione* La soluzione calda deve essere limpida o debolmente opalescente (procedimento A, I, pag 35)

Ceneri solforiche. Non superiori allo 0,1 per cento, determinate su 0,5 g.

Grado di insaturazione. 0,100 g si sciolgono in una beuta da 100 ml, in una miscela di 5 ml di *acido cloridrico diluito* e 30 ml di *acido acetico glaciale*. La soluzione si titola con *bromo 0,1 N* fino a scomparsa della colorazione rossa in presenza di *0,05* ml di *etossicrisoidina soluzione* aggiunta verso la fine della titolazione. Si devono impiegare non meno di 10,3 ml e non più di 11,1 ml di *bromo 0,1 N*.

DETERMINAZIONE QUANTITATIVA

A 2,000 g circa, esattamente pesati, si aggiungono 10 ml di *alcool* e si titola con *sodio idrossido 0,5 N* in presenza di *fenolftaleina soluzione*.

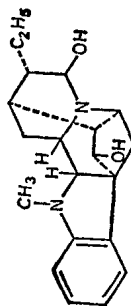
1 ml di *sodio idrossido 0,5 N* corrisponde a 92,14 mg di acido undecilenico ($C_{11}H_{20}O_2$)

CONSERVAZIONE

In recipienti chiusi, al riparo dalla luce

La monografia AJMALINA (II, pag 52) è sostituita dalla seguente:

AJMALINA
Ajmalinum

Ajmalinum ®; ajmalinum monohydricum ®

(1'S, 2R, 2'R, 3S, 4R, 6S, 7aR, 12aS, 12bS) 3-Etil-12-metil-1, 2, 3, 4, 6, 7, 7a, 12, 12a, 12b-decaidro-7a, 2, 6-etiliden-pirido [2,1-a] (β-carbolin)-2', 4-diolo.

$C_{20}H_{26}N_2O_2$ PM = 326,4
Monoidrato
$C_{20}H_{26}N_2O_2 \cdot H_2O$ PM = 344,5

Titolo. Deve contenere non meno del 98,0 per cento e non più dell'equivalente del 102,0 per cento di ajmalina ($C_{20}H_{26}N_2O_2$), calcolato sulla sostanza essiccata.

CARATTERI

Polvere cristallina bianca o leggermente giallina, inodore o quasi

Solubilità. Praticamente insolubile in *acqua*, molto solubile in *alcool*, in *cloroformio* ed in *acido acetico glaciale*, moderatamente solubile in *alcool metilico* ed in *etere*.

IDENTIFICAZIONE

A) Ad alcuni milligrammi si aggiungono 0,05 ml di *acido nitrico* Si sviluppa un'intensa colorazione rossa.

B) 3 ml di soluzione S (v. Saggi) si diluiscono a 1000 ml con *acqua* La soluzione, esaminata alla luce U V, presenta due massimi di assorbimento vicini a 245 nm e a 287 nm. I valori di E (1%, 1 cm), riferiti alla sostanza essiccata, sono rispettivamente di 235 e 80

SAGGI

Soluzione S. 0,250 g si sciolgono in 0,25 ml di *acido fosforico* e si porta al volume di 25,0 ml con *acqua*

Aspetto della soluzione. La soluzione S deve essere limpida (procedimento B, I, pag 35) e non più intensamente colorata della soluzione di riferimento G_6 (procedimento 2, I, pag 37).

Potere rotatorio specifico. Tra +122° e +132°, determinato sulla soluzione S e riferito alla sostanza essiccata.

Solfati. 15 ml di soluzione S devono soddisfare al « Saggio limite per i solfati (0,1 per cento), (I, pag. 138).

Perdita all'essiccamento. Determinata per essiccamento a 130° nel vuoto su 0,50 g: a) non superiore all'1,0 per cento per l'ajmalina anidra, b) non inferiore al 4,0 per cento e non superiore al 6,0 per cento per l'ajmalina monoidrato.

Ceneri solforiche. Non superiori allo 0,1 per cento, determinate su 1,0 g

DETERMINAZIONE QUANTITATIVA

0,250 g circa, esattamente pesati, si sciolgono in una miscela di 30 ml di *acido acetico* e 20 ml di *anidride acetica*. Si effettua il dosaggio in ambiente non acquoso delle basi organiche (I, pag.99), titolando con *acido perclorico 0,1 N* e determinando al potenziometro il punto di equivalenza corrispondente al primo flesso.

1 ml di *acido perclorico 0,1 N* corrisponde a 32,64 mg di ajmalina ($C_{20}H_{26}N_2O_2$)

CONSERVAZIONE

In recipienti ben chiusi, al riparo dalla luce

ETICHETTE

Devono indicare se trattasi di prodotto anidro o monoidrato

La monografia CHIMOTRIPSINA (II, pag. 265) è sostituita dalla seguente

CHIMOTRIPSINA
Chymotrypsinum

Chymotrypsinum Ⓔ

Enzima proteolitico ottenuto per attivazione del chimotripsinogeno estratto dalla ghiandola pancreatica del bue, *Bostaurus L.*

Titolo. Deve contenere non meno di 4,0 microkatals (1) per milligrammo In soluzione il pH ottimale per l'attività enzimatica è circa 8; a pH 3 l'attività enzimatica è inibita reversibilmente presenta la massima stabilità

CARATTERI

Polvere bianca, cristallina o amorfa, inodore

Solubilità. Moderatamente solubile in *acqua* La forma amorfa è igroscopica

IDENTIFICAZIONE

A) Si prepara la soluzione di substrato come segue. A 24,0 mg di *acetiltirosina estere etilico* si aggiungono 0,2 ml di *alcool* e si agita fino a dissoluzione Si aggiungono 2,0 ml di *soluzione tampone pH 7,0* (fosfati M/15) ed 1 ml di *rosso metile indicatore misto* e si porta a 10,0 ml con *acqua*. Su una piastra ad incavi di porcellana bianca si miscelano 0,2 ml di detta soluzione con 0,05 ml di una soluzione contenente 1 mg per ml della chimotripsina da esaminare. Si ottiene una colorazione rosso porpora.

B) A 5 ml di una soluzione contenente 1 mg per ml della chimotripsina da esaminare si aggiungono 0,10 ml di una soluzione di *tosilfenilalanilclorometano* al 2,0 per cento p/v in *alcool*. Si porta il pH a 7,0 e si agita per 2 ore. Si tratta tale soluzione come indicato al saggio di identificazione *A*) e si miscela. Nei 3 minuti successivi non si sviluppa colorazione.

SAGGI

Soluzione S. 0,100 g si sciolgono in *acqua* portando al volume di 10,0 ml

Aspetto della soluzione. La soluzione deve essere al massimo debolmente opalescente (Procedimento A, I, pag. 35)

pH. Tra 3,0 e 5,0 determinato sulla soluzione

Estinzione. 30,0 mg si sciolgono in *acido cloridrico 0,001 N* e si porta a 100,0 ml con lo stesso solvente L'estinzione specifica E (1%, 1 cm) della soluzione misurata in corrispondenza del massimo di assorbimento a 281 nm circa, è compresa tra 18,5 e 22,5 e quella misurata in corrispondenza del minimo di assorbimento a 250 nm circa, non è superiore a 8.

Tripsina. Su una piastra ad incavi di porcellana bianca si trasferiscono 0,05 ml di *soluzione tampone pH* 8,1 (tris(idrossimetil) aminometano) e 0,10 ml di soluzione S. Si aggiungono 0,2 ml di soluzione di substrato (1) e si inizia a misurare il tempo; entro 3-5 minuti non si sviluppa alcuna colorazione rosso-porpora. Contemporaneamente si effettua una prova di controllo con la sostanza da esaminare a cui è stata aggiunta *tripsina di riferimento* in quantità non superiore all'1 per cento p/p. In questo caso si sviluppa una colorazione rosso porpora.

Istamina (I, pag 227, Suppl., pag. 61). Non superiore a 1 μg (calcolato come istamina base) per 4 microkatal di attività chimotriptica. Prima del saggio si riscalda la soluzione di chimotripsina su b.m. per 3 minuti.

Perdita all'essiccamento. Non superiore al 5,0 per cento, determinata per essiccamento a 60° per 2 ore, ad una pressione massima di 5 Torr, su 0,10 g (I, pag. 40, Suppl., pag. 11).

DETERMINAZIONE QUANTITATIVA.

L'attività della chimotripsina è determinata per confronto tra la velocità con cui provoca l'idrolisi della *acetiltirosina estere etilico* e la velocità con cui la *chimotripsina di riferimento* provoca l'idrolisi dello stesso substrato nelle medesime condizioni.

Si utilizza un contenitore da 30 ml circa munito di: un agitatore (per esempio magnetico); un coperchio munito di fori per l'introduzione dei reattivi e per l'inserimento degli elettrodi, per l'introduzione dell'estremità di una buretta e di un tubo per il flusso dell'azoto. L'apparato deve essere provvisto di un termostato che consenta di mantenere la temperatura a 25°+0,1°.

Tale apparecchiatura può essere adattata per operazioni automatiche o manuali; nel secondo caso la buretta è graduata in 0,005 ml e l'apparato per la titolazione potenziometrica è collegato con una scala espansa e con elettrodi di vetro-calomelano.

Soluzione da esaminare. 25 mg circa, esattamente pesati, si sciolgono in 250 ml di *acido cloridrico 0,001 N*.

Soluzione di confronto. 25 mg circa di *chimotripsina di riferimento*, esattamente pesati, si sciolgono in 250 ml di *acido cloridrico 0,001 N*.

Le due soluzioni si conservano a temperatura di 0°—5°. Si scalda a circa 25° per oltre 15 minuti 1 ml di ciascuna soluzione e se ne utilizzano 50 μl, corrispondenti a circa 27 nanokatal, per ciascuna titolazione.

Nel contenitore si introducono 10,0 ml di *calcio cloruro soluzione 0,01 M* e, agitando, 0,35 ml di *acetiltirosina estere etilico soluzione 0,2 M*. Si mantiene il contenitore in atmosfera di azoto e quando la temperatura è stabilizzata a 25°+0,1° (dopo circa 5 minuti), si porta esattamente il pH a 8,0 mediante aggiunta di *sodio idrossido 0,02 N*. Si aggiungono 50 μl della *soluzione da esaminare* corrispondente a 5 μg circa (p) e immediatamente si inizia a misurare il tempo. Si mantiene il pH a 8,0 mediante l'aggiunta di *sodio idrossido 0,02 N* annotando i volumi aggiunti ogni 30 secondi. Si determina il volume (V) della soluzione di sodio idrossido utilizzato al secondo, tra 30 secondi e 3 minuti e mezzo. Si opera nelle medesime condizioni con la *soluzione di confronto* è si determina il volume (V') della soluzione di sodio idrossido utilizzato al secondo. L'attività della sostanza da esaminare espressa in microkatal per milligrammo, si calcola mediante la formula seguente:

$$\frac{p' \times V}{p \times V'} \times A$$

(1) L'unità microkatal è definita come l'attività enzimatica che provoca, in determinate condizioni, l'idrolisi di una micromole di substrato per secondo.

(1) A 98,5 mg di *tosilarginina cloridrato estere metilico* adatto al dosaggio della tripsina, si aggiungono 5 ml di *soluzione tampone pH* 8,1 (tris(idrossimetil)aminometano) agitando fino a dissoluzione del substrato. Si aggiungono 2,5 ml di *rosso metile indicatore misto* e si porta a 25,0 ml con *acqua*.

dove:

p' = peso in milligrammi della *chimotripsina di riferimento*;
p = peso in milligrammi della *sostanza da esaminare*;
V' = volume della soluzione di sodio idrossido utilizzato al secondo per la *soluzione di confronto*;
V = volume della soluzione di sodio idrossido utilizzato al secondo per la *soluzione da esaminare*;
A = attività della *chimotripsina di riferimento* in microkatal per milligrammo.

Quando la chimotripsina è destinata all'uso oftalmico (1) *o alla somministrazione per via parenterale, deve anche soddisfare al «Controllo di sterilità»* (pag. 00).

CONSERVAZIONE.

In recipienti ermeticamente chiusi, ad una temperatura compresa tra 2° e 8°, al riparo dalla luce e dall'umidità.

ETICHETTE.

L'etichetta del contenitore o dell'imballaggio deve indicare:

- la quantità di chimotripsina e l'attività totale contenuta nel recipiente espressa in microkatal;
- se la sostanza è destinata all'uso oftalmico o alla somministrazione parenterale, se del caso.

All'elenco dei reattivi e delle soluzioni tampone riportati nel I Volume e nel Supplemento sono aggiunte le seguenti voci:

Acetiltirosina estere etilico. (N-acetil-L-tirosina estere etilico). $C_{13}H_{17}NO_4$ (P.M. 251,3). Polvere cristallina bianca. Potere rotatorio specifico: tra +19° e +25° determinato su una soluzione all'1,0 per cento p/v in *alcool*. P.f.: 80° circa. (E1%, 1 cm): tra 60 e 68 determinato a 278 nm in soluzione alcoolica.

Acetiltirosina estere etilico soluzione 0,2 M. Si sciolgono 502,6 mg di *acetiltirosina estere etilico* in *alcool* portando al volume di 10,0 ml.

Calcio cloruro soluzione 0,01 M. 0,147 g di di *calcio cloruro* si sciolgono in *acqua* portando al volume di 100,0 ml.

Soluzione tampone pH 8,1 (tris(idrossimetil) aminometano). 0,294 g di *calcio cloruro* si sciolgono in 40 ml di *tris(idrossimetil)aminometano soluzione*, si aggiusta il pH con *acido cloridrico N* e si porta a 100,0 ml con *acqua*.

Tris(idrossimetil)aminometano. $C_4H_{11}NO_3$ (P.M. 121,1). Cristalli incolori. Solubilissimo in *acqua*, solubile in *alcool*, poco solubile in *acetone* e *etere*. P.f.: 170° circa.

Tris(idrossimetil)aminometano soluzione. Soluzione contenente in 1000 ml l'equivalente di 24,22 g di *tris(idrossimetil)aminometano*.

Tosilarginina cloridrato estere metilico (N-tosil-L-arginina estere metilico cloridrato). $C_{14}H_{23}ClN_4O_4S$ (P.M. 378,9). Potere rotatorio specifico: Tra −12° e −16°, determinato su una soluzione al 4,0 per cento p/v. P.f.: 145° circa.

Tosil fenilalanil clorometano (N-tosil-L-fenilalanil-clorometano). $C_{17}H_{18}ClNO_3S$ (P.M. 351,9). Potere rotatorio specifico: tra −85° e −89° determinato su una soluzione all'1,0 per cento p/v in *alcool*. P.f.: 105° circa. E(1%, 1 cm): Tra 290 e 320 determinato a 228,5 nm in soluzione alcoolica.

(1) La chimotripsina destinata all'uso oftalmico ha un'attività non inferiore a 5,0 microkatal per milligrammo.

La monografia ISOPRENALINA SOLFATO (II, pag. 619) è sostituita dalla seguente:

ISOPRENALINA SOLFATO

Isoprenalinum sulfuricum

Isoprenalini sulfas Ⓔ

$$\left[HO-C_6H_3(OH)-CHOH-CH_2-\overset{+}{N}H_2-CH(CH_3)_2 \right]_2 \; SO_4^{2-}, \; 2H_2O$$

(*RS*) 1-(3,4-diidrossifenil)-2-isopropilammino etanolo solfato

$(C_{11}H_{17}NO_3)_2 \cdot H_2SO_4 \cdot 2H_2O$ P.M. = 556,6

Titolo. Deve contenere non meno del 98,0 per cento e non più dell'equivalente del 102,0 per cento di isoprenalina solfato $[(C_{11}H_{17}NO_3)_2 \cdot H_2SO_4]$ calcolato sulla sostanza anidra.

CARATTERI.

Polvere cristallina bianca o quasi bianca, inodore o quasi.

Solubilità. Molto solubile in *acqua*, poco solubile in *alcool*, praticamente insolubile in *clorotormio* e in *benzolo*.

P.f. 128° circa (con dec.).

IDENTIFICAZIONE.

A) A 0,1 ml di soluzione S (v. Saggi) si aggiungono 0,9 ml di *acqua* e 0,05 ml di *ferro (-ico) cloruro soluzione (1)*: si sviluppa una colorazione verde. Si aggiunge, goccia a goccia, *sodio bicarbonato soluzione*: la colorazione vira al blu, quindi al rosso.

B) 5 ml della soluzione, preparata nel saggio «Chetoni», si portano al volume di 50,0 ml *con acido solforico 0,01 N*; 25,0 ml si diluiscono a 100,0 ml con lo stesso acido. Esaminata alla luce U.V. tra 230 e 350 nm, in vaschetta da 1 cm, la soluzione presenta un massimo di assorbimento vicino a 280 nm: il valore di E (1%, 1 cm) è di 105 circa.

C) 1 ml di soluzione S (v. Saggi), si diluisce a 10 ml con *acqua* e si aggiungono 0,25 ml di *argento nitrato soluzione (1)*. Entro 10 minuti si forma un precipitato fine, grigiastro brillante e la soluzione diventa rosa.

D) La soluzione S (v. Saggi) dà le reazioni caratteristiche dei solfati (I, pag. 98).

SAGGI.

Soluzione S. 5,0 g si sciolgono in *acqua esente da anidride carbonica* portando al volume di 50 ml. La soluzione va utilizzata entro due ore dalla preparazione.

Aspetto della soluzione. La soluzione S deve essere limpida (procedimento B, I, pag. 35) e non più intensamente colorata della soluzione di confronto G_5 (procedimento 2, I, pag. 37).

pH. 1 ml di soluzione S si diluisce a 10 ml con *acqua* Il pH della soluzione deve essere compreso tra 4,0 e 5,5.

Chetoni. 0,20 si sciolgono in *acido solforico 0,01 N* portando al volume di 100,0 L'estinzione della soluzione, misurata a 310 nm, in vaschetta da 1 cm, non deve essere superiore a 0,20.

Ferro. 10 ml di soluzione S devono soddisfare al « Saggio limite per il ferro » (Metodo B), (10 p.p.m.), (I, pag. 133 e Suppl., pag. 34).

Metalli pesanti. 12 ml di soluzione S devono soddisfare al « Saggio limite per i metalli pesanti » (10 p.p.m.), (I, pag. 135). Come soluzione campione si impiega la *soluzione di piombo (Pb) a 1 p.p.m.*

Acqua. Non meno del 5,0 per cento e non più del 7,5 per cento, determinata col semimicrometodo su 0,200 g (I, pag. 119).

Ceneri solforiche. Non superiori allo 0,1 per cento, determinate su 1,0 g

DETERMINAZIONE QUANTITATIVA

0,400 g circa, esattamente pesati, si sciolgono, riscaldando leggermente se necessario, in 20 ml di *acido acetico anidro*. Si effettua il dosaggio in ambiente non acquoso delle basi organiche (I, pag 99), titolando con *acido perclorico **0,1 N*** in presenza di *cristal violetto soluzione.*

1 ml di *acido perclorico* 0,1 *N* corrisponde a 52,06 mg di isoprenalina solfato $[C_{11}H_{17}NO_3]_2 \cdot H_2SO_4]$.

CONSERVAZIONE

In recipienti ben chiusi, al riparo dalla luce

La monografia PARACETAMOLO (suppl , pag 359) è sostituita dalla seguente

PARACETAMOLO
Paracetamolum

Paracetamolum ®

CH_3— C —NH— —OH
‖
O

$C_8H_9NO_2$ PM = 151,2

Titolo. Deve contenere non meno del 99,0 per cento e non più dell'equivalente del 101,1 per cento di paracetamolo ($C_8H_9NO_2$), calcolato sulla sostanza essiccata.

CARATTERI

Polvere cristallina bianca, inodore

Solubilità. Moderatamente solubile in *acqua*, molto solubile in *alcool*, molto poco solubile in *etere* e *cloroformio*

IDENTIFICAZIONE

La reazione di identificazione C) può essere omessa quando vengono effettuate le reazioni di identificazione A), B), D) ed E); le reazioni di identificazione B), D) ed E) possono essere omesse quando vengono effettuate quelle A) e C).

A) P.f Tra 168° e 172°.

B) 50 mg si sciolgono in 100,0 ml di *alcool metilico*. Si preleva 1,0 ml di questa soluzione, vi si aggiungono 0,5 ml di *acido cloridrico 0,1 N* e si porta a 100,0 ml con *alcool metilico*. Si opera al riparo dalla luce diretta e si misura, immediatamente, l'estinzione della soluzione ottenuta, al massimo di assorbimento vicino a 249 nm, in vaschetta da 1 cm. Il valore di E (1%, 1 cm) è circa 880.

C) Lo spettro di assorbimento infrarosso, eseguito su pasticca, paragonato a quello del *paracetamolo di riferimento*, mostra massimi di assorbimento alle stesse lunghezze d'onda e di eguali intensità relative.

D) 0,1 g si riscaldano all'ebollizione per 3 minuti con 1 ml di *acido cloridrico*, si aggiungono 10 ml di *acqua* e si raffredda: non si forma alcun precipitato. Per aggiunta di 0,05 ml di *potassio bicromato 0,1 N* si sviluppa una colorazione violetta, che non vira al rosso.

E) Riscaldando su fiamma diretta dà la reazione caratteristica dell'acetile (I, pag 89).

SAGGI

4-Aminofenolo. 0,50 g si sciolgono in una miscela di volumi eguali di ***alcool metilico*** e ***acqua***, portando al volume di 10,0 ml. Si aggiungono 0,2 ml di una soluzione preparata di fresco contenente l'1 per cento p/v di *sodio nitroprussiato* e l'1 per cento p/v di *sodio carbonato anidro*. Si mescola e si lascia riposare per 30 minuti. La soluzione non deve essere più fortemente colorata in azzurro di una soluzione di confronto preparata contemporaneamente e nelle stesse condizioni usando 10,0 ml di una miscela a volumi eguali di *alcool metilico* e *acqua* contenenti 0,50 g di *paracetamolo esente da 4-aminofenolo* e 0,5 ml di una soluzione di *4-aminofenolo* allo 0.005 per cento p/v nella stessa miscela di solventi.

Sostanze organiche analoghe. Si opera per cromatografia su strato sottile, utilizzando una lastra di *gel di silice* GF_{254}.

Soluzione del prodotto in esame (*a*). 1,0 g di sostanza, finemente polverizzata, si trasferisce in un tubo da centrifuga da 15 ml con tappo smerigliato, si aggiungono 5,0 ml di *etere*, si agita meccanicamente per 30 minuti e si centrifuga a 1000 giri al minuto per 15 minuti, oppure finché il liquido surnatante non sia limpido.

Soluzione del prodotto in esame (*b*). 1,0 ml di soluzione (*a*) si porta al volume di 10,0 ml con *alcool*.

Soluzione di confronto (*c*). Soluzione allo 0,005 per cento p/v di *cloroacetanilide* in *alcool*.

Soluzione di confronto (*d*). Soluzione alcoolica contenente 0,25 per cento p/v di *cloroacetanilide* e 0,1 per cento p/v di paracetamolo.

Procedimento. Sulla lastra si depongono separatamente 200 µl di soluzione (*a*) e 40 µl di ciascuna soluzione (*c*), (*b*) e (*d*). Si effettua la cromatografia, senza attendere la saturazione della vasca, per un percorso di 14 cm, con una miscela di 65 v. di *cloroformio*, 10 v. di *toluene* e 25 v. di *acetone*. La lastra si asciuga in corrente d'aria calda e si esamina a luce U.V. di 254 nm. Se sul cromatogramma ottenuto con la soluzione in esame (*a*) compare una macchina secondaria dovuta alla cloro-

acetanilide, questa non deve essere più intensa di quella ottenuta con la soluzione di confronto (*c*). Qualsiasi altra macchina secondaria, oltre a quella dovuta alla cloroacetanilide, ottenuta con la soluzione in esame (*b*), non deve essere più intensa di quella ottenuta con la soluzione di confronto (*c*). Il saggio non è valido se non si osserva separazione tra le macchie del paracetamolo e della cloroacetanilide nel cromatogramma ottenuto con la soluzione di confronto (*d*): la macchia del paracetamolo ha un valore di Rf più basso.

Metalli pesanti. 1,0 g si sciolgono in una miscela formata da 85 v di *acetone* e 15 v. di *acqua* e si porta al volume di 20,0 ml con la stessa miscela di solventi 12 ml di soluzione devono soddisfare al «Saggio limite per i metalli pesanti» (20 p.p.m.). Come soluzione di riferimento si impiega la *soluzione di piombo (Pb) a 1 p.p.m.*, ottenuta diluendo la *soluzione di piombo (Pb) a 100 p.p.m.* con la miscela di acetone e di acqua

Perdita all'essiccamento. Non superiore allo 0,5 per cento, determinata per essiccamento in stufa a 100°-105°, su 1,00 g (I, pag. 40, Suppl., pag. 11)

Ceneri solforiche. Non superiori allo 0,1 per cento, determinate su 1,0 g

DETERMINAZIONE QUANTITATIVA

0,300 g circa, esattamente pesati, si sciolgono in una miscela di 10 ml di *acqua* e 30 ml di *acido solforico diluito*. Si fa bollire per 1 ora a ricadere, si raffredda e si porta a 100,0 ml con *acqua*. A 20,0 ml di soluzione si aggiungono 40 ml di *acqua*, 40 g di ghiaccio, 15 ml di *acido cloridrico diluito* e 0,1 ml di *ferroina*, quindi si titola con *ammonio* e *cerio solfato 0.1 N*, fino a colorazione gialla Si esegue una prova in bianco.

1 ml di *ammonio* e *cerio solfato 0,1 N* corrisponde a 7,56 mg di paracetamolo ($C_8H_9NO_2$).

CONSERVAZIONE

In recipienti ben chiusi, al riparo dalla luce

All'elenco delle «Sostanze di riferimento» (I, pag 428, Suppl., pag 126) è aggiunta la voce:

Paracetamolo di riferimento

All'elenco dei reattivi riportati nel I Volume e nel Supplemento, è aggiunta la voce:

Soluzione di piombo (Pb) a 100 p.p.m. Una quantità di *piombo nitrato* corrispondente a 0,400 g di Pb (NO_3) si scioglie in *acqua* portando al volume di 250,0 ml. Si diluisce 1 a 10 con *acqua* immediatamente prima dell'uso

---

La monografia PIPERAZINA ADIPATO (II, pag 810) è sostituita dalla seguente

PIPERAZINA ADIPATO
Piperazinum adipicum

Piperazini adipas Ⓔ

$$H_2\overset{+}{N}\langle\ \rangle\overset{+}{N}H_2 ,\ \left[{}^{-}OOC-(CH_2)_4-COO^{-}\right]$$

$C_{10}H_{20}N_2O_4$ P M = 232,3

Titolo. Deve contenere non meno del 98,0 per cento di piperazina adipato ($C_{10}H_{20}N_2O_4$), calcolato sulla sostanza essiccata.

CARATTERI

Polvere cristallina, bianca, inodore

Solubilità. Solubile in *acqua*, praticamente insolubile in *alcool*.

P.f. Fonde a 250° circa (con dec.).

IDENTIFICAZIONE

A) 0,1 g si sciolgono n 5 ml di *acqua*; si aggiungono 0,5 g di *sodio bicarbonato*, 0,5 ml di *potassio ferricianuro soluzione* e 0,1 ml di *mercurio* Si agita energicamente per 1 minuto, poi si lascia riposare per 20 minuti Si sviluppa lentamente una colorazione rossiccia.

B) A 10 ml della soluzione S (v Saggi) si aggiungono 5 ml di *acido cloridrico* e si estrae con tre porzioni di *etere*, ciascuna da 10 ml Si conserva lo strato acquoso per la reazione di identificazione *C*). Si evaporano a secco gli estratti eterei riuniti, si lava con pochi millilitri di *acqua* e si essicca a 100°-105°. Il residuo fonde a 152° circa.

C) Si scalda lo strato acquoso proveniente dalla reazione di identificazione *B*) per allontanare l'etere disciolto, si aggiungono 0,5 g di *sodio nitrito* e si porta ad ebollizione. Si raffredda nel ghiaccio per 15 minuti, stregando le pareti interne del contenitore con una bacchetta di vetro. Si filtra: i cristalli, dopo lavaggio con 10 ml di *acqua* ghiacciata ed essiccamento a 100°-105°, fondono a 159° circa.

SAGGI

Soluzione S. 2,0 g si sciolgono in *acqua* e si portano a 40 ml con lo stesso solvente

pH. Tra 5,0 e 6,0, determinato sulla soluzione S, preparata di recente

Amine primarie. 0,25 g si sciolgono in 50 ml di *acqua* A 0,5 ml di tale soluzione si aggiungono 0,5 ml di *etanolo* ed 1 ml di una soluzione di *dietossitetraidrofurano* all'1 per cento v/v in *acido acetico glaciale* Si riscalda per 30 minuti a b.m a 80°, si raffredda in *acqua* ghiacciata per 2 minuti circa e si aggiungono 3 ml di una soluzione di *dimetilamminobenzaldeide* (*p*) al 2 per cento in una soluzione al 5 per cento v/v di *acido cloridrico* in *acido acetico glaciale* Si misura l'estinzione a 570 nm, a 7-10 minuti dopo l'aggiunta della soluzione di dimetilamminobenzaldeide, utilizzando, come bianco, una miscela degli stessi reattivi nelle stesse proporzioni.

L'estinzione non deve essere superiore a quella di una soluzione di riferimento preparata contemporaneamente e nello stesso modo partendo da 0,5 ml di una soluzione di *etilendiammina* allo 0,001 per cento p/v, in luogo della soluzione della sostanza in esame.

Metalli pesanti. 12 ml della soluzione S devono soddisfare al « Saggio limite per i metalli pesanti » (20 p p m.), (I, pag. 135) Come soluzione campione si impiega la *soluzione di piombo (Pb) a 1 p p.m.*

Perdita all'essiccamento. Non superiore allo 0,5 per cento, determinata per essiccamento in stufa a 100°-105° su 1,00 g (I, pag. 40, Suppl, pag 11)

Ceneri solforiche. Non superiori allo 0,1 per cento, determinate su 1,0 g

DETERMINAZIONE QUANTITATIVA

0,200 g circa, esattamente pesati, si sciolgono in una miscela di 3,5 ml di *acido solforico N* e 10 ml di *acqua* Si aggiungono 100 ml di *acido picrico soluzione (1)*, si scalda a b.m. per 15 minuti e si lascia a riposo per 1 ora Si filtra per crogiuolo a setto poroso di pasta di vetro (porosità n. 10). Il residuo si lava con successive porzioni, ciascuna da 10,0 ml, di una miscela a volumi eguali di soluzione satura di *acido picrico* e di *acqua* fino a scomparsa dei solfati nel liquido di lavaggio. Quindi si lava il precipitato con 5 porzioni, ciascuna da 10 ml, di *etanolo* e si essicca a 100°-105°.

1,000 g del residuo corrispondono a 0,4268 g di piperazina adipato ($C_{10}H_{20}N_2O_4$).

CONSERVAZIONE

In recipienti ben chiusi.

All'elenco dei reattivi riportati nel I Volume e nel Supplemento sono aggiunte le seguenti voci:

Acido picrico soluzione (1). A 100 ml di una soluzione satura di *acido picrico* si aggiungono 0,25 ml di *sodio idrossido soluzione concentrata*

Dietossitetraidrofurano (2,5-dietossitetraidrofurano) $C_8H_{16}O_3$ (P M. 160,2). Miscela di isomeri cis e trans. Liquido limpido, incolore o leggermente giallastro, praticamente insolubile in *acqua*, solubile in *alcool*, in *etere* e nella maggior parte dei solventi organici. Densità relativa: 0,975 circa Indice di rifrazione: 1,418 circa.

La monografia SODIO BROMURO (II, pag. 943) è sostituita dalla seguente:

SODIO BROMURO
Natrium bromidum

Natrii bromidum Ⓔ

NaBr P.M. = 102,9

Titolo. Deve contenere non meno del 98,0 per cento di sodio bromuro (NaBr), calcolato sulla sostanza essiccata.

CARATTERI

Piccoli cristalli incolori, trasparenti o opachi, o polvere granulare bianca; inodori, leggermente igroscopici.

Solubilità. Molto solubile in *acqua*, solubile in *alcool.*

IDENTIFICAZIONE.

Dà le reazioni caratteristiche del sodio (I, pag. 97) e quelle dei bromuri (I, pag 92)

SAGGI

Soluzione S. 10,0 g si sciolgono in *acqua*, portando al volume di 100 ml.

Aspetto della soluzione. La soluzione S deve essere limpida o molto debolmente opalescente (Procedimento B, I, pag. 35) e incolore (Procedimento 2, I, pag. 37).

Acidità o alcalinità. A 10 ml della soluzione S si aggiungono 0,05 ml di *azzurro bromotimolo soluzione (1).* Per il viraggio dell'indicatore non devono essere impiegati più di 0,5 ml di *acido cloridrico 0,01 N* o di *sodio idrossido 0,01 N.*

Bromati. A 5 ml della soluzione S si aggiungono 5 ml di *acqua*, 1 ml di *acido solforico diluito*, 1 ml di *cloroformio* e si agita energicamente. Lo strato cloroformico deve rimanere incolore (Procedimento 1, I, pag. 36).

Cloruri. Non superiori allo 0,6 per cento. In un pallone si sciolgono 1,000 g in 20,0 ml di *acido nitrico* diluito. Si aggiungono 5 ml di *idrogeno perossido soluzione* e si riscalda su b.m. per 75 minuti circa fino a completa decolorazione della soluzione. Dopo il raffreddamento si aggiungono 5,0 ml di *argento nitrato 0,1 N* e 1 ml di *nitrobenzene.* Si agita energicamente, si aggiungono 5 ml di *ferro(-ico) ammonico solfato soluzione (2)*, poi si titola con *ammonio tiocianato 0,1 N.*

1 ml di *argento nitrato 0,1 N* corrisponde a 3,545 mg di Cl^-.

Solfati. 15 ml della soluzione S devono soddisfare al « Saggio limite per i solfati » (100 p p m), (I, pag 138)

Bario. A 5 ml della soluzione S si aggiungono 5 ml di *acqua* e 1 ml di *acido solforico diluito*. La soluzione deve rimanere limpida (Procedimento B, I, pag. 35) per almeno 15 minuti.

Calcio. 10 ml della soluzione S devono soddisfare al « Saggio limite per il calcio » (100 p.p m), (I, pag. 132 e Suppl., pag. 33)

Ferro. 5 ml della soluzione S si portano a 10 ml con *acqua* La soluzione deve soddisfare al « Saggio limite per i ferro », Metodo B, (20 p.p m.), (I, pag. 133 e Suppl., pag. 34).

Magnesio. A 10 ml della soluzione S si aggiungono 1 ml di *glicerina*, 0,15 ml di *giallo titanio soluzione*, 0,25 ml di *ammonio ossalato soluzione*, 5 ml di *sodio idrossido soluzione diluita* e si agita La soluzione non deve essere più fortemente colorata in rosa di una soluzione di confronto preparata contemporaneamente nello stesso modo, con 10 ml di *magnesio (Mg) soluzione a 10 p.p.m.* (100 p.p.m.).

Metalli pesanti. 12 ml della soluzione S devono soddisfare al « Saggio limite per i metalli pesanti » (10 p.p m), (I, pag 135). Come soluzione campione si impiega la *soluzione di piombo (Pb) a 1 p.p.m.*

Perdita all'essiccamento. Non superiore al 3,0 per cento, determinata per essiccamento in stufa a 120°, su 1,00 g (I, pag 40, Suppl, pag. 11)

DETERMINAZIONE QUANTITATIVA

0,400 g circa, esattamente pesati, si sciolgono in 40 ml di *acqua* e 5 ml di *acido nitrico*. Si aggiungono *50,0* ml di *argento nitrato 0,1 N* e 2 ml di *nitrobenzene*. Si titola con *ammonio tiocianato 0,1 N*, aggiungendo 10 ml di *ferro(-ico)ammonico solfato soluzione (2)* come indicatore ed agitando energicamente verso la fine della titolazione. Il valore ottenuto deve essere corretto per la quantità dei cloruri, determinati secondo il saggio precedentemente descritto.

1 ml di *argento nitrato 0,1 N* corrisponde a 10,29 mg di sodio bromuro (NaBr)

CONSERVAZIONE

In recipienti ben chiusi

Natrii thiosulfas Ⓔ

$Na_2S_2O_3 \cdot 5H_2O$ P M = 248,2

Titolo. Deve contenere non meno del 99,0 per cento e non più dell'equivalente del 101,0 per cento di sodio tiosolfato ($Na_2S_2O_3 \cdot 5H_2O$)

CARATTERI

Cristalli trasparenti, incolori, efflorescenti all'aria secca

Solubilità. Solubilissimo in *acqua*, praticamente insolubile in *alcool* Si scioglie nella sua acqua di cristallizzazione a 49° circa.

IDENTIFICAZIONE

A) Decolora la *iodio-iodurata soluzione*.

B) A 1 ml di soluzione al 5 per cento p/v si aggiungono 2 ml di *argento nitrato soluzione* (2) Si forma un precipitato bianco che diventa rapidamente giallastro e poi nero

C) A 5 ml di soluzione al 5 per cento p/v si aggiunge 1 ml di *acido cloridrico*: si sviluppa *anidride solforosa* riconoscibile dall'odore e si forma un precipitato di zolfo

D) La soluzione S (v Saggi) dà le reazioni (*a*) e (*b*) caratteristiche del sodio (I, pag 97).

SAGGI

Soluzione S. 10,0 g si sciolgono in *acqua esente da anidride carbonica* e si porta a 100 ml con lo stesso solvente.

Aspetto della soluzione. La soluzione S deve essere limpida (Procedimento B, I, pag 35) e incolore (Procedimento 2, I, pag 37).

pH. Tra 6,0 e 8,4, determinato sulla soluzione S

Cloruri. A 5 ml della soluzione S si aggiungono 15 ml di *acido nitrico diluito* Si fa bollire leggermente 3-4 minuti. Si raffredda, si filtra e si porta a 25 ml con *acqua* Si prelevano 12,5 ml della soluzione e si portano a 15 ml con *acqua* La soluzione deve soddisfare al « Saggio limite per i cloruri » (200 p.p m.), (I, pag 132)

Solfuri. A 10 ml della soluzione S si aggiungono 0,05 ml di soluzione di *sodio nitroprussiato* al 5 per cento p/v, preparata di recente Non deve apparire colorazione violetta.

Solfati e solfiti. 2,5 ml di soluzione S si portano a 10 ml con *acqua*. A 3 ml di tale soluzione si aggiungono 2 ml di *iodio-iodurata soluzione*, quindi si continua ad aggiungere tale soluzione, goccia a goccia, fino alla comparsa di una leggerissima colorazione gialla persistente. Si porta a 15 ml con *acqua*. La soluzione deve soddisfare al « Saggio limite per i solfati » (0,2 per cento), (I, pag. 138).

Metalli pesanti. A 10 ml della soluzione S si aggiungono 0,05 ml di *sodio solfuro soluzione*. Si prepara la soluzione di confronto nello stesso modo con 10 ml di *soluzione di piombo (Pb) a 1 p.p.m.* Dopo 2 minuti, un'eventuale colorazione bruna nella soluzione del prodotto in esame non deve essere più intensa di quella ottenuta con la soluzione di confronto (10 p.p.m.).

DETERMINAZIONE QUANTITATIVA

0,500 g circa, esattamente pesati, si sciolgono in 20 ml di *acqua* e si titola con *iodio 0,1 N* in presenza di *salda d'amido*, aggiunto verso la fine della titolazione

1 ml di *iodio 0,1 N* corrisponde a 24,82 mg di sodio tiosolfato ($Na_2S_2O_3 \cdot 5H_2O$)

CONSERVAZIONE

In recipienti ben chiusi.

Il capitolo CONTROLLO DI STERILITA' (I, pag 217, Suppl, pag. 55) (fatta esclusione per la « **Prova per la verifica dell'assenza di Mycobacterium tuberculosis** ») è sostituito dal seguente:

CONTROLLO DI STERILITA' Ⓔ

Il controllo si applica alle sostanze, preparazioni e materiali che, secondo le prescrizioni della Farmacopea, devono essere sterili. Un risultato favorevole significa solo che non si riscontra la presenza di microrganismi contaminanti nel campione esaminato nelle condizioni prescritte. Tuttavia per poter estendere tali risultati ad un intero lotto di prodotto, bisogna avere la certezza che tutte le unità che lo compongono siano state preparate in modo che ciascuna soddisfi al saggio con la stessa probabilità. Questo dipende, ovviamente, dalle precauzioni prese durante la fabbricazione. Nel caso dei prodotti sottoposti ad un processo di sterilizzazione nei loro recipienti finali ermeticamente chiusi, le prove fisiche, biologicamente significative e registrate automaticamente che testimoniano il corretto svolgimento del trattamento di sterilizzazione (v. Metodi di Sterilizzazione) esteso ad un intero lotto, presentano maggiori garanzie del controllo di sterilità. Quest'ultimo resta comunque il solo metodo analitico disponibile per l'esame della sterilità di un prodotto.

Precauzioni contro le contaminazioni microbiche.

I controlli di sterilità devono essere effettuati in condizioni tali da evitare ogni possibilità di contaminazione del prodotto, come ad esempio l'uso di cappe a flusso laminare d'aria sterile. Le misure adottate per evitare la contaminazione devono essere tali da non influire sui microrganismi evidenziati dal controllo. D'altra parte le condizioni operative devono essere sistematicamente verificate attraverso il campionamento dell'aria e delle superfici di lavoro, oltre che effettuando lo stesso controllo su prodotti sicuramente sterili.

Terreni di coltura.

I terreni adatti alla coltura di batteri aerobi, anaerobi e dei funghi, con i relativi metodi di preparazione, sono descritti nell'Allegato II. Si possono utilizzare anche altri terreni, ma a condizione che ne sia dimostrata la capacità di assicurare la crescita di una vasta gamma di microrganismi. Essi dovranno soddisfare ai saggi seguenti, effettuati su ciascun lotto dei terreni scelti prima del saggio sul prodotto in esame o contemporaneamente ad esso.

Sterilità. Si tengono in incubazione per non meno di 7 giorni, ad una temperatura di 30°-35°, le aliquote di terreno destinate al controllo della contaminazione batterica e ad una temperatura di 20°-25° quelle destinate al controllo della contaminazione fungina; non si deve rilevare crescita microbica.

Proprietà nutritive. Le provette del terreno prescelto vengono insemenzate rispettivamente con circa 100 microrganismi viventi (aerobi, anaerobi e funghi) e incubate per non più di 7 giorni alle temperature sopra indicate. I terreni sono idonei se si rileva una crescita precoce e abbondante dei microrganismi in questione. Per il saggio si consiglia l'impiego dei seguenti microrganismi: *Staphylococcus aureus* (ATCC 6538P o NCTC 7447), *Bacillus subtilis* (ATCC 6633 o NCIB 8054), *Clostridium sporogenes* (ATCC 19404), *Candida albicans* (ATCC 2091).

Fertilità dei terreni colturali in presenza ed in assenza del prodotto in esame.

a) In almeno 4 provette del o dei terreni prescelti per il controllo di sterilità batterica, si introduce una quantità della preparazione in esame uguale a quella utilizzata per il controllo stesso e preparata nella stessa maniera (1). La metà delle provette viene insemenzata con 0,1 ml di una coltura di un ceppo idoneo (2) di un microrganismo aerobio (per esempio *Staphylococcus aureus*), diluita in maniera tale da contenere circa 1000 organismi viventi per ml (vale a dire circa 100 organismi). L'altra metà delle provette viene insemenzata con 0,1 ml di una sospensione di spore di un ceppo idoneo di un organismo anaerobio (per esempio *Clostridium sporogenes*), diluita in maniera da contenere circa 1000 spore per ml (vale a dire circa 100 spore). Si prepara una serie di provette di confronto senza il prodotto in esame che vengono insemenzate nello stesso modo. Si lasciano in incubazione le provette a 30°-35° per non più di 7 giorni.

b) In almeno 2 provette di terreno scelto per il controllo di sterilità fungina si introduce una quantità della preparazione in esame uguale a quella utilizzata per il controllo stesso e preparata nella stessa maniera (1). Le provette vengono insemenzate con 0,1 ml di una coltura di un ceppo idoneo (2) di un micete (per esempio

---

(1) Per il catgut e gli altri fili chirurgici, si utilizzano due fili per ciascun tubo.

(2) Per l'esame degli antibiotici si utilizzano microrganismi di un ceppo sensibile agli antibiotici.

Candida albicans), diluita in maniera tale da contenere circa 1000 germi per ml (vale a dire circa 100 microrganismi). Si preparano 2 provette di confronto senza il prodotto in esame che vengono insemenzate nello stesso modo. Si lasciano le provette in incubazione a 20°-25° per non più di 7 giorni.

Se il terreno destinato al controllo di sterilità fungina deve servire anche al controllo di sterilità batterica, esso deve essere sottoposto al saggio con ciascun tipo di microrganismo.

Se durante l'incubazione si osserva che le curve di crescita sono identiche in presenza o in assenza del prodotto in esame, quest'ultimo è privo di attività antimicrobica e il saggio di sterilità può essere effettuato senza modifiche.

Se invece le curve di crescita sono differenti, nel senso che la fase di latenza è più lunga nelle colture contenenti il prodotto in esame che in quelle di confronto, o che il logaritmo del numero di batteri nella fase stazionaria è più basso di quello delle colture di confronto, ciò significa che il prodotto in esame ha un'attività antimicrobica che deve essere eliminata per filtrazione, diluizione o neutralizzazione (controllando con un nuovo saggio l'avvenuta eliminazione del fenomeno) o sormontata prolungando il tempo d'incubazione di tanto quanto la fase di latenza anomala lo suggerisce (questa fase di latenza anomala può durare da poche ore a 21 giorni).

Controllo di sterilità del prodotto in esame

Il controllo della preparazione in esame può essere effettuato sia mediante la tecnica di filtrazione su membrana, sia mediante la tecnica della semina diretta. Si utilizza di preferenza la tecnica di filtrazione su membrana quando la natura del prodotto lo consente, cioè nel caso di soluzioni acquose, alcooliche, oleose o preparazioni miscibili o solubili nei solventi acquosi od oleosi e che nelle condizioni prescritte per il controllo non hanno alcuna attività antimicrobica.

Filtrazione su membrana. Si utilizzano membrane filtranti con diametro nominale dei pori di non più di 0,45 µm e di cui sia stata accertata la capacità di trattenere i microrganismi. Ad esempio per le soluzioni acquose, oleose o leggermente alcooliche possono utilizzarsi le membrane in nitrato di cellulosa, mentre per i liquidi ad alto contenuto alcoolico possono utilizzarsi quelle in acetato di cellulosa.

La tecnica appresso descritta presuppone l'impiego di membrane del diametro di 50 mm circa. Se si utilizzano membrane di diametro diverso, i volumi dei liquidi per diluizioni e lavaggio devono essere modificati in conseguenza.

Le membrane e gli apparecchi per filtrazione devono essere sterilizzati con mezzi appropriati. Gli apparecchi devono risultare tali che la soluzione in esame possa venire introdotta e filtrata in condizioni di asepsi e devono permettere l'asportazione della membrana da trasferire nel terreno di coltura o l'aggiunta dei terreni di coltura e l'incubazione nell'apparecchio stesso.

Soluzioni acquose. Una piccola quantità di diluente sterile appropriato, come la soluzione neutra allo 0,1 per cento p/v di *peptone di carne* o di *caseina*, si introduce nell'apparecchio contenente la membrana e si filtra. Il contenuto del recipiente o dei recipienti in esame si pone in uno o più apparecchi preparati come sopra descritto. Si deve utilizzare in ogni caso almeno la quantità indicata nelle tabelle 1 e 2 diluita, se necessario, a 100 ml circa con il diluente sterile scelto. Si filtra immediatamente.

Se la soluzione sottoposta al saggio presenta proprietà antimicrobiche, si lava la membrana almeno 3 volte filtrando ogni volta 100 ml circa del diluente sterile scelto. Se necessario si aggiunge al diluente sterile o al terreno una sostanza neutralizzante.

L'intera membrana viene posta nel terreno di coltura o, in condizioni di asepsi, la si divide in due parti uguali, ponendone ciascuna in un terreno differente. Si può anche travasare il terreno nell'apparecchio contenente la membrana.

Si pone in incubazione il terreno per almeno 7 giorni (1), salvo diversa indicazione nelle singole monografie, a 30°-35° per il controllo della contaminazione batterica e a 20°-25° per il controllo della contaminazione fungina.

Polveri solubili. In ciascuno dei terreni di coltura si scioglie in un solvente appropriato, come la soluzione neutra allo 0,1 per cento p/v di *peptone di carne* o di *caseina*, almeno la quantità indicata nelle tabelle 1 e 2 e si procede come descritto per le soluzioni acquose, utilizzando una membrana adatta al solvente scelto.

Oli e soluzioni oleose. Per ciascun terreno di coltura si utilizza una quantità almeno uguale a quella indicata nelle tabelle 1 e 2. Gli oli e le soluzioni oleose con viscosità debole, possono essere filtrati senza diluizione attraverso la membrana asciutta. Gli oli e le soluzioni oleose viscosi possono essere diluiti, se necessario, con un appropriato solvente sterile, come l'sopropile miristato, del quale sia dimostrata l'assenza di azione antimicrobica nelle condizioni prescritte per il saggio.

Si lascia penetrare per gravità l'olio nella membrana quindi si applica gradualmente la pressione o l'aspirazione. Si lava la membrana per almeno tre volte, filtrandovi ogni volta 100 ml di un'appropriata soluzione sterile, come quella allo 0,1 per cento p/v di *peptone di carne* o di *caseina*, addizionata dello 0,1 per cento di (*p-ter-ottilfenossi*)-*poliossietanolo* oppure l'1 per cento p/v di *polisorbato* 80. Si trasferisce la membrana nel terreno di coltura, o viceversa, come descritto per le soluzioni acquose e si lascia in incubazione per il tempo e la temperatura prescritti.

Pomate. Per ciascun terreno di coltura si utilizza una quantità almeno uguale a quella indicata nella tabella 2.

Le pomate con eccipiente grasso (unguenti) e le emulsioni del tipo acqua in olio, possono essere diluite all'1 per cento con l'isopropile miristato, come sopra descritto, riscaldando se necessario ad una temperatura non superiore a 40° (2). Si filtra il più rapidamente possibile e si procede come descritto per le soluzioni oleose.

Semina diretta. La quantità di preparazione indicata nelle tabelle 1 e 2 viene seminata direttamente nel terreno di coltura in modo che tra la preparazione e il terreno vi sia un rapporto di 1 a 10 circa per i liquidi e di 1 a 100 per i solidi, salvo diversa indicazione nelle singole monografie.

Per i liquidi oleosi si aggiunge al terreno l'1 per cento p/v di *polisorbato 80* o lo 0,1 per cento p/v di (*p-ter-ottilfenossi*)-*poliossietanolo* oppure altro emulsionante, nella concentrazione appropriata, che non svolga alcuna azione antimicrobica nelle condizioni prescritte per il controllo.

Per le pomate si emulsiona in un diluente sterile appropriato, come la soluzione neutra allo 0,1 per cento p/v di *peptone di carne* o di *caseina* contenente l'emulsionante, fino ad ottenere una diluizione di 1 a 10. L'emulsione ottenuta viene insemenzata nel terreno privo di agente emulsionante.

Se il prodotto in esame rivela un'attività antimicrobica, si effettua il saggio dopo la neutralizzazione mediante una sostanza o mediante diluizione in una quantità sufficiente di terreno di coltura.

Quando si devono esaminare grandi quantità di prodotto, è preferibile servirsi di terreni di coltura concentrati, preparati tenendo conto della diluizione che si

---

(1) Se per la natura del prodotto o per il trattamento cui esso è stato sottoposto si sospetta la presenza di microrganismi con vitalità alterata, il periodo di incubazione deve essere prolungato a 10 o a 14 giorni.

(2) In alcuni casi particolari può essere necessario riscaldare a non più di 45°.

dovrà effettuare. In alcuni casi particolari il terreno di coltura concentrato può essere aggiunto direttamente al prodotto in esame nel recipiente che lo contiene.

Si lasciano in incubazione i terreni insemenzati per almeno 14 giorni, salvo diversa indicazione nelle singole monografie, tenendo le provette destinate al controllo della contaminazione batterica a 30°-35° e quelle destinate al controllo della contaminazione fungina a 20°-25°. Durante il periodo di incubazione si osservano frequentemente le colture; quelle contenenti le preparazioni oleose devono invece essere agitate delicatamente ogni giorno.

Se invece si utilizza il terreno al tioglicolato o un altro terreno analogo per l'individuazione degli anaerobi, si deve agitare il meno possibile, allo scopo di mantenere le condizioni di anaerobiosi.

Lettura e interpretazione dei risultati. I terreni vengono esaminati durante e alla *fine del periodo di incubazione* per verificare macroscopicamente la proliferazione microbica. Se questa non si manifesta il prodotto è considerato sterile. Se invece si osserva una crescita di microrganismi, il prodotto è considerato inquinato, a meno che non si possa dimostrare, mediante la ripetizione del controllo o altro metodo, che la non validità del controllo stesso è stata determinata da cause indipendenti dal prodotto in esame. Per dimostrare che la proliferazione microbica nei terreni utilizzati nel controllo non è dovuta a contaminazione intrinseca del prodotto da esaminare, ma a contaminazione nel corso del controllo stesso, questo può essere ripetuto con le modalità seguenti (1).

Prima ripetizione. Il numero dei campioni da esaminare e i volumi da prelevare sono gli stessi del primo saggio. Se non vi è crescita di microrganismi il prodotto è considerato sterile. Se vi è crescita microbica, si isolano e si identificano i contaminanti microbici confrontandoli con i contaminanti del primo controllo. Se i contaminanti non possono essere differenziati facilmente, il prodotto è considerato inquinato; se i contaminanti vengono differenziati facilmente, si può effettuare una seconda ripetizione.

Seconda ripetizione. Si utilizza lo stesso volume e un numero di *materiali doppio* rispetto a quelli impiegati nel controllo e nella prima ripetizione. Se non vi è crescita di microrganismi il prodotto è considerato sterile. Se nel corso della seconda ripetizione si verifica crescita microbica il prodotto è considerato inquinato.

Applicazione del controllo alle preparazioni per uso parenterale

Nel procedimento di filtrazione su membrana si utilizza, possibilmente, l'intero contenuto del recipiente, ma non meno delle quantità indicate nella tabella 1, portando, se necessario, al volume di circa 100 ml con un appropriato diluente sterile come ad esempio la soluzione allo 0,1 per cento p/v di *peptone di carne* o di *caseina*. Nel procedimento per semina diretta si utilizzano le quantità indicate nella tabella 1.

La ricerca dei contaminanti batterici e fungini si effettua su uno stesso campione del prodotto in esame. Se il contenuto di ciascun recipiente non è sufficiente per il controllo, si utilizza, per la semina dei diversi terreni, il contenuto di due o più recipienti. Quando il volume del liquido di un recipiente è superiore a 100 ml, la tecnica per filtrazione su membrana deve essere applicata usando almeno la metà del contenuto (2).

(1) Su altri campioni, provenienti da un ulteriore prelevamento.

(2) Il controllo può anche essere effettuato aggiungendo, nel recipiente, un terreno di coltura concentrato.

TABELLA 1

Quantità di prodotto da esaminare nel saggio di sterilità di preparazioni per uso parenterale

Contenuto di ogni recipiente	Quantità minima da utilizzare in ogni terreno di coltura per i saggi batterici e fungini
LIQUIDO	
inferiore a 1 ml	L'intero contenuto di un recipiente
da 1 ml a < 4 ml	Metà del contenuto
da 4 ml a < 20 ml	2 ml
da 20 ml a < 100 ml	Il 10 per cento del contenuto, salvo diversa indicazione nelle singole monografie
SOLIDO	
inferiore a 50 mg	L'intero contenuto di un recipiente
da 50 mg a < 200 mg	Metà del contenuto
≥ 200 mg	100 mg

Applicazione del saggio alle preparazioni oftalmiche e ad altre preparazioni non iniettabili che devono essere sterili.

Nel procedimento di filtrazione su membrana, come in quello per semina diretta, il contenuto dei recipienti del campione si mescola accuratamente, utilizzando le quantità indicate nella tabella 2.

TABELLA 2

	Tipo di preparazione	Quantità da riunire	Quantità necessarie per ogni controllo
Filtrazione	Soluzioni acquose	10–100 ml	5–10 ml
	Altre preparazioni solubili in acqua o in isopropile miristato o in altro solvente	1–10 g	corrispondenti a 0,5–1 g
Semina diretta	Preparazioni liquide filtrabili o non	10–100 ml	5–10 ml
	Preparazioni solubili	1–10 g	corrispondenti a 0,5–1 g
	Preparazioni insolubili, pomate per sospensione o per emulsione	1–10 g	corrispondenti a 0,5–1 g

Se la quantità totale contenuta nei recipienti del campione è inferiore alla quantità totale massima da riunire si utilizza, in parte o per intero, il contenuto dei recipienti.

Se il contenuto dei recipienti non è sufficiente per raccogliere la quantità minima da riunire, si deve usare un maggior numero di contenitori

Applicazione del saggio al materiale da medicazione

La confezione sigillata si apre sotto una cappa sterile o in un ambiente reso sterile mediante un flusso laminare di aria sterile. Si eseguono tre prelievi per ogni terreno di coltura da punti diversi della confezione.

Nel caso di cotone idrofilo o dell'ovatta di viscosa idrofila o di analoghi materiali non tessuti, ogni prelievo deve corrispondere alla quantità di 1 g circa. Nel caso di materiali tessuti ogni prelievo deve essere di circa 10 cm^2 Per le compresse di garza, in confezioni singole o multiple, si prelevano tre compresse intere per ciascuno dei terreni di coltura da utilizzare da punti differenti della confezione.

Si deve usare in ciascun caso una quantità di terreno di coltura (da 20 a 150 ml) tale da potervi immergere completamente il campione

Se fosse necessario ripetere la prova, si ripete l'intero procedimento con lo stesso numero di prelievi del primo controllo, eseguito, ogni volta, su altre confezioni aperte al momento.

Semina diretta. Ogni prelievo si introduce in un recipiente separato contenente il terreno scelto. Si eseguono tre prelievi per ogni tipo di terreno.

Eliminazione delle eventuali proprietà antimicrobiche. Se nel saggio di fertilità del terreno la crescita del microrganismo prescelto è inibita o ritardata in presenza del campione, il controllo deve essere ripetuto aggiungendo un appropriato neutralizzante, oppure mediante la tecnica per filtrazione su membrana; se ciò non è possibile, a causa della natura del prodotto in esame, il controllo deve essere ripetuto prolungando il periodo di incubazione se la crescita del microrganismo prescelto è stata ritardata.

Filtrazione su membrana Ogni frazione del prodotto in esame si agita per 10 minuti in non meno di 50 ml di terreno nutritivo, contenente lo 0,07 per cento p/v di *lecitina* e lo 0,5 per cento p/v di *polisorbato 80*. Si filtra immediatamente la maggior quantità possibile di terreno attraverso una membrana filtrante sterilizzata, preventivamente umettata con lo stesso terreno di coltura. Si lava successivamente la membrana con un appropriato liquido sterile (in quantità pari a 50 ml, da ripetersi per tre volte), come ad esempio la soluzione neutra allo 0,1 per cento p/v di ***peptone di carne*** o di ***caseina*** e la si trasferisce nel recipiente contenente il terreno di coltura **scelto.**

Applicazione del saggio al catgut e ad altri fili per uso chirurgico

Si opera come per il materiale da medicazione con le modifiche seguenti

Campione da esaminare. Si usano fili interi prelevati da confezioni appena aperte Se fosse necessario ripetere il saggio, si applica lo stesso procedimento con lo stesso numero di fili del primo saggio, prelevando ciascun filo da una confezione appena aperta

Semina diretta. Si introduce ogni filo in un recipiente contenente il terreno prescelto utilizzando 5 fili per ogni tipo di terreno Si deve impiegare una quantità di terreno (da 20 a 150 ml) sufficiente per potervi immergere il campione da esaminare. Se le confezioni contengono più fili, i 5 fili previsti per il saggio vanno prelevati da 5 confezioni diverse.

Fertilità dei terreni colturali in presenza ed in assenza del campione da esaminare. Si verificano le proprietà nutritive di ciascun lotto di terreno e la neutralizzazione degli eventuali effetti inibitori, dovuti per esempio alla sterilizzazione o ai componenti dei liquidi nei quali il filo è conservato come già descritto. Si inoculano con i microrganismi prescelti almeno 2 provette di ciascun terreno, ognuna delle quali contenente 2 fili del materiale da esaminare e almeno 2 provette di terreno senza il materiale da esaminare e si incubano i terreni con i batteri a 30°-35° ed i terreni con i funghi a 20°-25° per non più di 7 giorni. Se durante l'incubazione si ha una proliferazione microbica precoce e abbondante, sia in presenza che in assenza del prodotto da esaminare, quest'ultimo è privo di attività antimicrobica e il saggio può essere effettuato senza modifiche.

Se la crescita dei microrganismi nelle provette con e senza il prodotto da esaminare non è la stessa, il saggio va ripetuto dopo aver eliminato qualsiasi effetto inibitorio (o se non è possibile, prolungando il periodo di incubazione).

Incubazione. Almeno 14 giorni a 30°-35° per i batteri aerobi e anaerobi e a 20°-25° per i funghi.

ALLEGATO I

Numero minimo raccomandato di unità da prelevare per il controllo di sterilità in rapporto alle unità totali di un lotto

Quando la monografia prescrive che una sostanza, una preparazione o un prodotto debbano soddisfare al controllo di sterilità, le prescrizioni si applicano ad ogni unità del lotto da sottoporre al controllo.

Pertanto esso deve essere condotto su un numero di contenitori tale che i risultati del saggio siano significativi.

Ai fini della riuscita del controllo, il lotto deve essere formato da un insieme omogeneo di contenitori chiusi preparati in modo tale che i rischi di contaminazione siano gli stessi per ciascuna delle unità che lo compongono. Il numero minimo di unità da sottoporre al controllo è indicato nelle tabelle seguenti, sempre che la fabbricazione e la manipolazione del prodotto si siano svolte, in ogni fase, in condizioni tali da evitare qualunque contaminazione. L'applicazione delle raccomandazioni può, comunque, essere in rapporto al volume di ogni contenitore e per qualunque altra particolare considerazione applicata al prodotto.

Numero di unità contenute in un lotto	Numero minimo di unità da prelevare
Preparazioni per uso parenterale	
inferiore o uguale a 100	il 10 per cento del lotto ma non di 4 unità
> 100 e ≤ 500	10 unità
> 500	il 2 per cento del lotto fino ad un massimo di 20 unità
Preparazioni per uso oftalmico e altre preparazioni non iniettabili	
inferiore o uguale a 200 recipienti	il 5 per cento ma non meno di 2 unità
> 200 recipienti	10 unità

Se il prodotto è confezionato in dosi uniche si effettua il campionamento secondo lo schema indicato per le preparazioni per uso parenterale.

Numero di unità contenute in un lotto	Numero minimo di unità da prelevare
Materiale da medicazione	
inferiore o uguale a 100 confezioni	il 10 per cento ma non meno di 4 confezioni
> 100 e ≤ 500	10 confezioni
> 500	il 2 per cento delle confezioni e fino ad un massimo di 20
Catgut e fili non riassorbibili per uso chirurgico	
inferiore o uguale a 1000 confezioni	il 2 per cento ma non meno di 5 confezioni
per ogni 1000 confezioni supplementari	da 2 ad un massimo di 40 confezioni supplementari
Materie solide sfuse	
inferiore a 4 recipienti	tutti i recipienti
≥ 4 e ≤ 50 recipienti	il 20 per cento ma non meno di 4 recipienti
> 50 recipienti	il 2 per cento fino ad un massimo di 10 recipienti

La quantità di prodotto da prelevare per ciascun recipiente corrisponde a 20 volte la dose umana abituale unitaria e comunque a non più di 6 grammi. Si effettua il controllo così come prescritto per le preparazioni per uso parenterale.

ALLEGATO II

Terreni di coltura

Il terreno liquido al tioglicolato è destinato principalmente alla ricerca dei batteri anaerobi, ma è adatto anche a rilevare i germi aerobi.

Il terreno all'idrolisato di caseina e di soja è destinato prevalentemente alla ricerca dei batteri aerobi ma è adatto anche per i funghi. Si possono utilizzare altri terreni a condizione che ne venga dimostrata la capacità di assicurare la crescita di una vasta gamma di microrganismi e che soddisfino al saggio di fertilità del terreno in presenza della preparazione in esame.

A) Terreno al tioglicolato

L-cistina . . . . 0,5 g
Agar in granuli . . . . 0,75 g
(Umidità massima 15%)
Cloruro di sodio . . . . 2,5 g
Glucosio monoidrato . . . 5,5 g
Estratto di lievito . . . . 5,0 g
(solubile in acqua)
Peptone pancreatico di caseina . . . . 15,0 g
Sodio tioglicolato o . . . . 0,5 g
acido tioglicolico . . . . 0,3 ml
Soluzione all'1 per 1000 di resazurina sodica, preparata di recente . . . . 1,0 ml
Acqua . . . . 1000 ml
pH del terreno dopo la sterilizzazione 7,1 ± 0,2

Si mescolano la L -cistina, l'agar, il cloruro di sodio, il glucosio, l'estratto di lievito e il peptone pancreatico di caseina con 1000 ml di acqua e si riscalda fino ad ottenere una soluzione. Si scioglie il sodio tioglicolato o l'acido tioglicolico e si aggiusta il pH con l'aiuto di una soluzione di sodio idrossido in modo che dopo la sterilizzazione il terreno abbia un pH di 7,1±0,2 Se si rende necessaria la filtrazione, si riscalda la soluzione senza farla bollire e si filtra per carta da filtro bagnata. Si aggiunge la soluzione di resazurina sodica, si mescola e si pone il terreno in recipienti idonei nei quali si possa determinare un rapporto tra la superficie e la profondità del terreno, tale che non più del terzo superiore del terreno abbia subito, alla fine del periodo di incubazione, un viraggio dell'indicatore nel senso dell'ossidazione.

Sterilizzare in autoclave a 120° per 20 minuti. Se necessario rigenerare in modo adeguato il terreno, prima dell'uso, riscaldando a b.m. per 20 minuti e raffreddando rapidamente.

B) Terreno all'idrolisato di caseina e di soja

Lisato pancreatico di caseina . . . . . 17,0 g
Lisato papainico di farina di soja . . . . 3,0 g
Sodio cloruro . . . . 5,0 g
Fosfato bipotassico . . . . 2,5 g
Glucosio monoidrato . . . . 2,5 g
Acqua distillata . . . . 1000 ml
pH del terreno dopo la sterilizzazione 7,3 ± 0,2

Si disciolgono i componenti in acqua riscaldando lentamente Si raffredda la soluzione a temperatura ambiente. Se necessario si aggiunge sodio idrossido N in modo che il pH del terreno così allestito e sterilizzato sia compreso fra 7,1 e 7,5. Si filtra se necessario fino ad ottenere una soluzione limpida, la si suddivide negli appropriati contenitori e si sterilizza in autoclave per 18-20 minuti a 120°.

Altri terreni sono indicati a pag. 565-566 del I Volume (VIII ed.).

ALLEGATO II

MODIFICHE A MONOGRAFIE, GIÀ PUBBLICATE SULLA VIII EDIZIONE DELLA « FARMACOPEA UFFICIALE » — I SUPPLEMENTO 1978 —, PER ADEGUAMENTO AI TESTI DELLA FARMACOPEA EUROPEA

F.U. VIII Suppl. 1978

Pag. 185. « ACQUA PER PREPARAZIONI INIETTABILI ». Il paragrafo « **Residuo all'evaporazione** » è sostituito dal seguente:

« **Residuo all'evaporazione.** Determinato per evaporazione a b.m. ed essiccamento in stufa a 100-105°, non deve essere superiore allo 0,004 per cento se il volume dei contenitori è uguale o inferiore a 10 ml e allo 0,003 per cento se esso è maggiore di 10 ml ».

Pag. 221. « CAPSULE » – **Tempo di disaggregazione.** Il paragrafo *Capsule rigide* è sostituito dal seguente:

« *Capsule rigide.* Si determina come descritto per le compresse semplici (pag. 250), senza dischi; se le capsule galleggiano sul liquido, i dischi possono essere aggiunti. Devono disaggregarsi in 30 minuti, salvo casi giustificati e autorizzati. Sulla rete non deve rimanere alcun residuo oppure questo deve consistere soltanto in frammenti dell'involucro o in una massa molle impalpabile. Se si utilizzano i dischi, l'eventuale residuo sulla parete inferiore deve consistere soltanto in frammenti dell'involucro (1). »

Pag. 306. « GLICEROLO ». Il paragrafo **Sostanze riducenti** è sostituito dal seguente:

« **Aldeidi e sostanze analoghe.** 12,5 ml di soluzione S si introducono in una beuta con tappo a smeriglio. Si aggiungono 2,5 ml di *acqua* e 1 ml di *fucsina decolorata soluzione.* Si tappa la beuta e si lascia a riposo per 1 ora. La colorazione violetta della soluzione non deve essere più intensa di quella di una soluzione di confronto ottenuta mescolando 1,6 ml di *potassio permanganato 0,1 N* e 250 ml di *acqua* (I, pag. 37, procedimento 2) ».

Pag. 352. « OLIO DI RICINO » – **Indice di acidità.** In luogo di: « 1,0 », leggasi: « 2,0 ».

Sostanze insaponificabili. In luogo di « 0,6 », leggasi « 0,8 ».

Estinzione. In luogo di: « 0,8 », leggasi: « 1,0 ».

Pag. 436. « VACCINI PER USO VETERINARIO ». Il paragrafo **Sterilità** è sostituito dal seguente:

« **Sterilità.** Devono soddisfare al « Controllo di sterilità » con le modifiche e precisazioni seguenti:

Nel caso in cui il volume del liquido contenuto nel recipiente è superiore a 100 ml, si raccomanda di utilizzare, se possibile, la tecnica di filtrazione su membrana. Se questa tecnica è utilizzata, il periodo di incubazione del terreno non deve essere inferiore a 14 giorni; quando invece essa non può essere applicata, può essere utilizzato il metodo della semina diretta. Quando il volume del liquido in ogni recipiente è superiore o uguale a 20 ml, la quantità minima da utilizzare in ogni terreno di coltura deve corrispondere al 10 per cento del contenuto, ma non deve essere superiore a 5 ml. Il numero appropriato di unità da esaminare è l'1 per cento delle unità totali di un lotto, con un minimo di 4 ed un massimo di 10 ».

ALLEGATO III

MODIFICHE E CORREZIONI AI TESTI DEL I VOLUME, DEL II VOLUME E DEL I SUPPLEMENTO 1978 DELLA VIII EDIZIONE DELLA "FARMACOPEA UFFICIALE"

F.U. VIII Vol. I

Pag. 463. « CONTENITORI PER SANGUE UMANO E SUE FRAZIONI ».

Alla voce « Contenitori di vetro », I paragrafo, le prime due righe sono sostituite dalle seguenti:

« **Descrizione.** I contenitori in vetro per la raccolta del sangue umano totale da utilizzarsi per la trasfusione o per la preparazione dei suoi derivati, sono bottiglie cilindriche ».

F.U. VIII Suppl. 1978

Pag. 160. TABELLA N. 3. L'avvertenza 3) è sostituita con la seguente: « 3) Le sostanze, loro sali e preparazioni di cui alle *Tabelle I* e *II* della TABELLA N. 7 vanno tenuti separati da altri medicamenti, in armadietti chiusi a chiave ».

Pag. 166. L'intestazione della TABELLA N. 7 è sostituita con la seguente:

« *Elenco delle sostanze, loro sali e preparazioni disciplinati dalla legge sulle sostanze stupefacenti e psicotrope* ».

Pag. 170. Nella *Tabella IV* della TABELLA N. 7 è aggiunta la sostanza: « Butallilonal » (*) ed è cancellata la sostanza: « Acido 1-(N-dietilmetiletilammonio ioduro)-5-etil-5-fenil-barbiturico » (**).

Pag. 172. Nella *Tabella VI* della TABELLA N. 7 sono aggiunte le sostanze: « Clabazam; Clordemetildiazepam; N-metil-lorazepam; Triazolam » (*).

(*) D.M. 20 febbraio 1980 - *Gazzetta Ufficiale*, 24 marzo 1980, *n.* 82.
(**) D.M. 20 febbraio 1980 - *Gazzetta Ufficiale*, 22 marzo 1980, *n.* 81.

ERRATA-CORRIGE

F.U. VIII Vol. II:

Pag. 1008, riga 3: in luogo di: « 0,04225 », leggasi: « 0,03325 ».

F.U. VIII Suppl. 1978:

Pag. XVIII: togliere l'asterisco alla voce « Petidina cloridrato ».
Pag. 64, riga 14: in luogo di: « A) e B) », leggasi: « A) o B) ».
Pag. 114, righe 32 e 33: in luogo di: « giri », leggasi: « g ».
Pag. 188, riga 21: in luogo di: « 0,05 mEq », leggasi: « 0,65 mEq ».
Pag. 188, riga 23: in luogo di: « 15,3 mEq », leggasi: « 1,53 mEq ».
Pag. 277, riga 23: in luogo di: « con », leggasi: « non ».
Pagg. 304-305: alla voce: « Glicerina », in luogo di: « Come alla monografia precedente », leggasi: « Come alla monografia successiva ».
Pag. 318 e pag. 402: il nome chimico riportato per la Iosciamina solfato deve intendersi attribuito alla Sinefrina tartrato e viceversa.
Pag. 367, riga 11: in luogo di: « È aggiunta la monografia seguente », leggasi: « La monografia Meperidina cloridrato è sostituita dalla seguente ».

(2985)

ERNESTO LUPO, *direttore* — DINO EGIDIO MARTINA, *redattore*

(1651074/3) Roma - Istituto Poligrafico e Zecca dello Stato - S.

(c. m. 411200801420)

L. 600